



Ricardo João Borges Nanocompósitos de celulose e metais (Au e Ag)
Pinto



Ricardo João Borges Pinto Nanocompósitos de celulose e metais (Au e Ag)

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Materiais Derivados de Recursos Renováveis, realizada sob a orientação científica do Professor Catedrático Carlos de Pascoal Neto e do Professor Associado Tito da Silva Trindade do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

“...é essencial polir tanto a sabedoria como o espírito... conservar o espírito imaculado e aberto e a sabedoria dentro de amplos horizontes”

Myamoto Musashi, Gorin no sho

(O livro dos cinco anéis, 1643)

o júri

presidente

Doutor Armando Jorge Domingues Silvestre
Professor Associado com Agregação da Universidade de Aveiro

Doutora Olinda Coelho Monteiro
Investigadora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Doutor Carlos de Pascoal Neto
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Doutor Tito da Silva Trindade
Professor Associado da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Gostaria de expressar o meu sincero apreço a todos aqueles que contribuíram para a elaboração deste trabalho mas sobretudo para o meu “crescimento” tanto a nível pessoal como profissional.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores o Doutor Carlos Pascoal Neto e o Doutor Tito Trindade não só pela oportunidade de trabalhar sobre a sua orientação mas também pela confiança, conselhos e disponibilidade constante durante todo este tempo. Toda a sua vasta competência e conhecimentos em muito contribuíram para a minha “evolução” científica.

Depois gostaria de fazer um agradecimento especial à Doutora Paula Alexandrina que nunca evitou em pôr de lado os seus próprios projectos para me ajudar quando necessário. Todo o seu apoio, amizade e competências técnicas e capacidades humanas em muito contribuíram ao longo deste caminho, e isso foi fundamental para a conclusão desta tese.

Um agradecimento especial também para o meu colega de grupo Gil Gonçalves pelo seu apoio, amizade e entreaajuda constante.

À Doutora Helena Nogueira pelo apoio, prestabilidade e competência nos ensinamentos sobre SERS. Ao Doutor Alessandro Gandini e à Doutora Ana Barros-Timmons pela ajuda, sugestões e disponibilidade constante.

Ao Doutor Armando Silvestre, quem considero uma pessoa “impecável”, por todos os conselhos e lições.

Para os meus companheiros do grupo de Materiais Macromoleculares e Lenhocelulósicos Ana Patrícia, Andreia, Carla, Cármén, Cidália, Dora, Fabiane, Gamelas, Gisela, Paula Pinto, Rui Domingues, Rui Rua, Sandra, Sara, Sofia, Sónia, Susana sem esquecer a Vera e todos os outros que por aqui foram passando (Catarina, Sónia e Tiago) todos pessoas 6 estrelas que tive o prazer de conhecer, pelo espectacular ambiente laboratorial e espírito de entreaajuda que em muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao grupo dos Inorgânicos Ana Luísa, Ângela, Paula, Penka e Sara pela ajuda e companheirismo. À Doutora Márcia Neves pela sua frontalidade e prestabilidade e auxílio em diversas ocasiões. Ao Manuel Martins toda a ajuda e grande competência, tanto na realização das análises de AFM como em discussões muito produtivas...no futuro quem sabe.

Ao Carlos Grandadeiro meu amigo e camarada de longa data pela sua amizade e companheirismo, sem dúvida um apoio inestimável ao longo de todos estes anos. Ao Mohamed Karmanoiu o Tarik cá do sítio pela sua amizade, ajuda e sentido de humor.

Para o grupo do EMMS Jean Lorenzzi, Júlio Longo e Marcos Ghislandi pela sua amizade além de me dar uma diferente perspectiva linguística e cultural.

Ao Sustainpack pelo suporte financeiro para a realização do projecto.

Por último, mas não por isso menos importante, à minha excepcional família, em especial aos meus pais pelo seu apoio, ajuda e excelente educação que me permitiu ser hoje quem sou.

Por todos os momentos no laboratório e em outras ocasiões...Muito Obrigado.

palavras-chave

Nanocompósitos, fibras de celulose, nanopartículas, LbL, propriedades ópticas e SERS.

resumo

Pretendeu-se com o presente trabalho preparar e caracterizar nanocompósitos obtidos a partir da incorporação de metais finamente divididos, especificamente ouro e prata, em substratos de origem polissacarídica, nomeadamente celulose vegetal e bacteriana.

A utilização deste conjunto de substratos permitiu verificar a importância da morfologia e dos grupos funcionais destes polímeros de fontes renováveis nas propriedades finais dos materiais sintetizados enquanto a utilização de diferentes metais permitiu a obtenção de propriedades específicas de acordo com o tipo de nanopartículas utilizadas.

Foram estudadas diferentes estratégias preparativas que incluirão a síntese *in situ* das nanopartículas na presença dos substratos e utilização de processos de deposição química nomeadamente a técnica de *layer-by-layer*.

Deste modo obteve-se um conjunto de materiais com propriedades inovadoras, nomeadamente ópticas, podendo dar origem a excelentes componentes ópticos estáveis a longo prazo que parecem particularmente interessantes para aplicações de papéis especiais (segurança) ou ainda para o desenvolvimento de substratos activos para bioanálise.

keywords

Nanocomposites, cellulose fibres, nanoparticles, LbL, optical properties and SERS.

abstract

The aim of this work is to prepare and characterize nanocomposites obtained from the incorporation of finely divided metals, specifically gold and silver, on substrates of polysaccharide origin, including vegetal and bacterial cellulose.

The use of this set of substrates allowed verifying the importance of morphology and functional groups of these renewable sources polymers in the final synthesized materials while the use of different metals allowed the achievement of specific properties according to the type of nanoparticles used.

Different preparative strategies were studied that include the *in situ* synthesis of nanoparticles in the presence of substrates and the use of chemical processes including the layer-by-layer deposition technique.

A set of materials with innovative properties were obtained, namely optical, that can lead to excellent long term optical stable components, particularly interesting for special paper applications (security) or to the development of active substrates for bioanalysis.

Índice geral

ÍNDICE GERAL	I
ABREVIATURAS.....	III
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. INTRODUÇÃO À NANOTECNOLOGIA	2
1.1.1. Definição de Nanociência e Nanotecnologia	2
1.1.2. Miniaturização: conceito “top-down” e “bottom-up”	3
1.2. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	4
1.2.1. Síntese de nanopartículas metálicas	6
1.2.2. Síntese de nanopartículas metálicas pelo método do citrato	7
1.2.3. Modificação superficial de nanopartículas metálicas.....	9
1.3. NANOCOMPÓSITOS	10
1.3.1. Estratégias de síntese	12
1.3.2. Deposição camada a camada (LbL)	13
1.4. CELULOSE	15
1.4.1. Estrutura molecular e supramolecular.....	15
1.4.2. Organização nas paredes celulares vegetais.....	18
1.4.3. Celulose bacteriana	21
1.5. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVO DESTE TRABALHO	23
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
2.1. SISTEMA CELULOSE/OURO	26
2.1.1. Síntese e caracterização das nanopartículas de Au e de Au@SiO ₂	26
2.1.2. Síntese e caracterização dos nanocompósitos celulose/Au e celulose/Au@SiO ₂	31
2.1.2.1. Preparação dos nanocompósitos através do método de LbL	31
2.1.2.2. Preparação dos nanocompósitos através da metodologia in situ.....	36
2.1.2.3. Preparação dos nanocompósitos através de difusão	40
2.1.3. Possíveis aplicações	42
2.2. SISTEMA CELULOSE/PRATA.....	43
2.2.1. Síntese e caracterização de nanopartículas de Ag e Ag@SiO ₂	43
2.2.2. Síntese e caracterização dos nanocompósitos celulose/Ag	47

2.2.2.1. Preparação através da metodologia LbL.....	47
2.2.2.2. Preparação através da metodologia in situ.....	49
2.2.3. Possíveis Aplicações.....	54
2.2.3.1. Nanocompósitos celulose/Ag como substratos para SERS.....	54
2.2.3.2. Nanocompósitos celulose/Ag como agentes antimicrobiano.....	64
3. CONCLUSÕES	67
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	71
4.1. MATERIAIS E REAGENTES	72
4.2. SÍNTESES QUÍMICAS	74
4.2.1. Síntese das nanopartículas de Au e de Au@SiO ₂	74
4.2.2. Síntese dos nanocompósitos celulose/Au e celulose/Au@SiO ₂	74
4.2.2.1. Preparação através da metodologia LbL.....	74
4.2.2.2. Preparação através da metodologia in situ.....	75
4.2.2.3. Preparação através de difusão.....	75
4.2.3. Síntese das nanopartículas de Ag e Ag@SiO ₂	75
4.2.3.1. Síntese pelo método de Creighton	75
4.2.3.2. Síntese pelo método de Lee-Meisel	75
4.2.3.3. Preparação das nanopartículas de Ag@SiO ₂	76
4.2.4. Síntese dos nanocompósitos celulose/Ag	76
4.2.4.1. Preparação através da metodologia LbL.....	76
4.2.4.2. Preparação através da metodologia in situ.....	76
4.3. ANÁLISE DOS NANOCOMPÓSITOS DE CELULOSE/PRATA EM SERS	77
4.4. CARACTERIZAÇÃO INSTRUMENTAL.....	77
5. BIBLIOGRAFIA.....	79

Abreviaturas

AFM	Microscopia de força atômica (do inglês atomic force microscopy)
AGU	Anidroglucose
BC	Celulose bacteriana
CV	Celulose vegetal
DLS	Espectroscopia de correlação fotônica (do inglês dynamic light scattering)
DP	Grau de polimerização (do inglês degree of polymerization)
ICP	Espectrometria de plasma acoplado indutivamente (do inglês inductively coupled plasma)
FT	Transformada de Fourier
LbL	Camada a camada (do inglês layer-by-layer)
MW	Peso molecular (do inglês molecular weight)
NPs	Nanopartículas
PDDA	Poli(cloreto de dialildimetilamônio)
PEO	Óxido de poli(etileno) (do inglês poly(ethylene oxide))
PSS	Poli(4-estireno sulfunato de sódio)
PVA	Álcool poli(vinílico) (do inglês poly(vinyl alcohol))
SEM	Microscopia electrónica de varrimento (do inglês scanning electron microscopy)
Ref	Referência
SERS	Difusão de Raman intensificada por superfície (do inglês surface enhanced Raman spectroscopy)
SHsal	Ácido tiosalicílico
STM	Microscopia de efeito de túnel (do inglês scanning tunneling microscopy)
TEM	Microscopia electrónica de transmissão (do inglês transmission electron microscopy)
TEOS	Tetraetilortosilicato
u.a.	Unidades arbitrárias
UV	Ultravioleta
UV-vis	Ultravioleta-visível
XRD	Difracção de raios X (do inglês X-ray difraction)
2dtpy	2,2'-Ditiodipiridina

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

O objectivo deste capítulo é apresentar um resumo dos conceitos teóricos mais importantes para a compreensão e interpretação dos resultados obtidos neste trabalho. Este capítulo está dividido em 5 partes. Na primeira parte faz-se uma breve contextualização dos termos Nanociência e Nanotecnologia. Na segunda parte são apresentadas algumas metodologias de síntese e modificação superficial das nanopartículas metálicas em estudo nesta monografia. Na terceira parte apresentam-se alguns conceitos sobre nanocompósitos do tipo polímero-carga inorgânica, classificação e preparação (nomeadamente através da técnica de *layer-by-layer*). Na quarta parte descrevem-se alguns aspectos gerais sobre a celulose, tanto vegetal como bacteriana, polímeros de origem polissacarídica usados neste trabalho como matrizes. Na quinta e última parte, faz-se um enquadramento do trabalho em função do objectivo subjacente ao mesmo.

1.1. Introdução à Nanotecnologia

1.1.1. Definição de Nanociência e Nanotecnologia

O termo “nanotecnologia” transformou-se numa palavra usada amplamente na literatura científica e na linguagem corrente. Na comunidade científica, o termo nanotecnologia não está bem definido tendo diferentes significados dependendo da área científica em que está inserido. Surpreendentemente, o termo “nanociência” é menos usado apesar de também ainda mal definido ^[1].

Analisando os termos nanociência e nanotecnologia, verifica-se que estes são compostos pelo prefixo “nano” e pelos nomes “ciência” e “tecnologia”. A “ciência” visa por um lado descobrir o que já existe e por outro inventar o que não existia anteriormente, ou seja, é o meio mais poderoso que a Humanidade tem para compreender e ao mesmo tempo mudar o mundo. A “tecnologia” pode ser definida como a capacidade para tirar partido dos progressos da ciência de modo a criar novas aplicações práticas, ou seja, é a principal força motriz para o progresso da humanidade uma vez que dispõe de uma grande variedade de novos materiais e dispositivos capazes de melhorar a qualidade de vida.

À semelhança de outros prefixos (micro, pico entre outros), o “nano” é usado para expressar uma ordem de grandeza correspondendo a um bilionésimo do metro. Quando colocado em frente da palavra ciência, o seu significado não é evidentemente um bilionésimo da ciência. Uma definição aceitável de nanociência é o estudo dos princípios fundamentais e fenómenos envolvendo moléculas e materiais com tamanhos entre 1 e 100 nm. A nanotecnologia baseia-se na capacidade de utilização destes materiais e sua manipulação e/ou organização de modo a obter dispositivos com propriedades e funções específicas ^[1-3].

A nanociência e a nanotecnologia são assim produto dos avanços recentes e revolucionários da ciência e da engenharia que estão a evoluir a um ritmo muito rápido. Estes são movidos pelo desejo de fabricar materiais com propriedades novas e aperfeiçoadas sendo susceptíveis ao impacto de todas as áreas da ciência (física, química, biológica, saúde, ...) e outros domínios interdisciplinares da ciência e da engenharia ^[2].

1.1.2. Miniaturização: conceito “top-down” e “bottom-up”

Do ponto de vista prático o interesse subjacente à nanotecnologia parece ser a miniaturização de “máquinas” com melhores desempenhos e altamente eficientes. No entanto, os materiais nanoestruturados podem ter aplicação potencial em domínios mais convencionais tais como detecção biológica, libertação controlada de medicamentos, filtros ópticos, sensores entre outros [2,4].

Existem dois tipos principais de abordagens no fabrico de nanomateriais: “top-down” (aproximação de cima para baixo) e “bottom-up” (aproximação de baixo para cima).

A abordagem “top down” propõe a miniaturização de dispositivos a partir de tecnologias actuais como sejam os processos litográficos. Esta tem funcionado muito bem mas torna-se cada vez mais evidente que está sujeita a limitações drásticas para dimensões menores que 100 nm. Com efeito, esta dimensão que se considera muito pequena pelos padrões de experiência quotidiana (cerca de um milésimo da largura de um cabelo humano) é muito grande na escala de átomos e moléculas (Figura 1) [1].

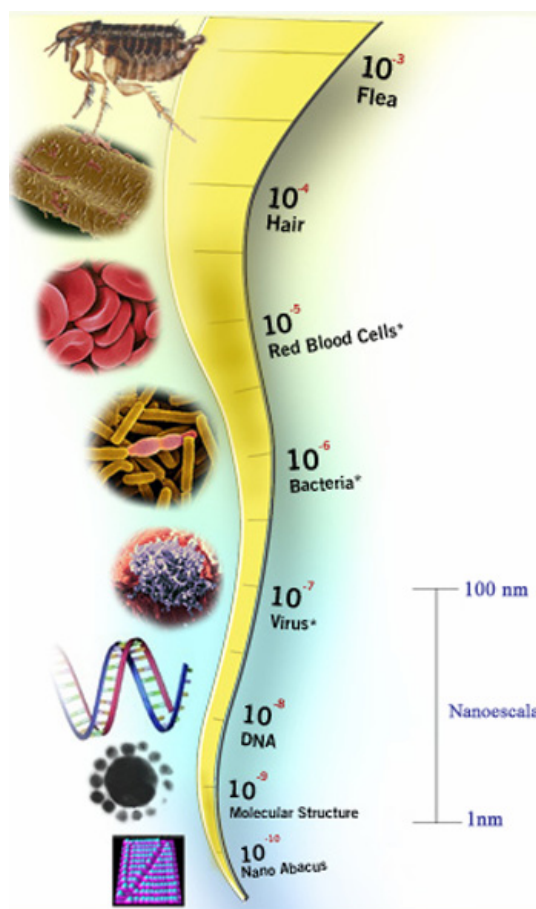


Figura 1 – A nanoescala (adaptado do site

http://www.discovernano.northwestern.edu/whatis/index_html/images/howsmall.jpg).

Portanto, “há muito espaço lá no fundo” para se proceder à miniaturização de máquinas como Richard Feynman afirmou na palestra à Sociedade Americana de Física em 1959 ^[5,6].

O conceito de “*bottom-up*” foi ponderado por Richard Feynman, que imaginava a construção de dispositivos a partir de átomos ou moléculas ligados quimicamente. Assim sendo, as nanopartículas podem ser embutidas como “blocos de construção” versáteis para a obtenção de dispositivos nanométricos, por exemplo, pela sua funcionalização com moléculas de propriedades e funções específicas, seguindo-se o seu arranjo bi ou tridimensional sobre um determinado substrato ^[1-3].

O conceito de baixo para cima desenvolveu-se apenas mais tarde devido ao aparecimento de novas “ferramentas” que podem medir e manipular a matéria, à escala nanométrica, onde se podem destacar os microscópios de sonda (AFM e STM) e também os microscópios electrónicos de alta resolução. Assim fica claro que esta abordagem é uma estratégia promissora uma vez que abre possibilidades quase ilimitadas no que respeita à concepção e construção de materiais capazes de executar funções específicas. Para além disso oferece uma contribuição inestimável para uma melhor compreensão de processos que ocorrem a nível atómico e molecular ^[1].

1.2. Nanopartículas metálicas

Nos últimos anos, a síntese de nanopartículas (NPs) de tamanho nanométrico atraiu um enorme interesse devido às aplicações na área da catálise, electrónica, medicina, análises químicas e bioquímicas devido, entre outras, às suas propriedades ópticas, catalíticas, eléctricas e magnéticas ^[2,3,7-9].

As NPs metálicas sintéticas encontram-se entre nós desde há séculos. De facto, há exemplos do seu uso (provavelmente não intencional) como pigmentos decorativos, pelo menos desde o tempo dos Romanos, como por exemplo na famosa taça de Lycurgus (Figura 2) ^[4].



Figura 2 – Taça de Lycurgus, do século IV DC, feita de vidro contendo uma pequena quantidade de nanopartículas de ouro e prata, (a) iluminada de fora e (b) de dentro (adaptado do site http://www.britishmuseum.org/explore/highlights/highlight_objects/pe_mla/t/the_lycurgus_cup.aspx).

O facto de as NPs terem um tamanho superior aos átomos individualizados, mas ao mesmo tempo menor que os materiais macrocristalinos análogos, faz com que estas apresentem um comportamento algo distinto ^[2]. Por exemplo, os fenómenos de superfície são habitualmente relevantes quando se estuda as NPs metálicas ^[10].

Um dos aspectos mais interessantes dos colóides metálicos é que as propriedades ópticas dependem do tamanho e forma das partículas. À medida que se reduz o tamanho das NPs, a cor destas pode mudar gradualmente através de diversos tons. Estes efeitos devem-se a alterações na frequência de ressonância de plasmão, que é a frequência à qual os electrões de condução oscilam em resposta a um campo eléctrico alternante de uma radiação electromagnética incidente. Os efeitos de forma de partícula podem ser ainda mais surpreendentes e pequenos desvios relativamente à geometria esférica podem provocar mudanças de cor drásticas ^[2,4,11].

A frequência de ressonância de plasmão é uma característica de alguns colóides de metais nobres e pode-se deduzir usando cálculos clássicos de dispersão da luz por pequenas partículas, pela denominada teoria de Mie. Apesar desta teoria permitir calcular os espectros de UV-vis para todos os metais, apenas aqueles que possuem electrões livres (exemplo: Au, Ag, Cu e metais alcalinos) apresentam ressonâncias de plasmão no visível, evidenciando cores intensas na forma coloidal ^[2,4,11].

Para além das propriedades intrínsecas das partículas, também o meio em que as NPs metálicas estão dispersas afecta as propriedades ópticas do colóide. Foi demonstrado que

tanto o índice de refracção do meio dispersante ^[11] como a distância média entre as NPs adjacentes ^[12,13] influí nas características espectrais de colóides metálicos ^[4].

De entre todos os tipos de NPs, as de ouro e prata, são das que têm ganho mais atenção nos últimos tempos. As de ouro devido principalmente às suas propriedades ópticas ^[2,4,9,13-15] e as de prata devido à capacidade de funcionarem como superfícies no efeito de SERS ^[3,8,9,16-21] além de demonstrar utilidade, nas suas diferentes formas químicas, como material antimicrobiano para uma vasta gama de microrganismos ^[22].

1.2.1. Síntese de nanopartículas metálicas

Desde o século XIX que os cientistas procuram compreender as propriedades físicas e químicas das NPs. Michael Faraday ^[23] foi provavelmente o primeiro a aplicar raciocínio químico na síntese de colóides de ouro e a atribuir correctamente as propriedades ópticas invulgares do Au coloidal a efeitos de tamanho que ocorrem em partículas de dimensão muito pequena ^[2,8-10].

Desde este trabalho pioneiro, ocorreu um grande progresso na síntese, modificação e caracterização destes sistemas usando-se uma ampla multiplicidade de solventes e substratos. O derradeiro objectivo de grande parte desta investigação é a compreensão de como a forma, o tamanho e organização afectam as propriedades ópticas e electrónicas destes materiais.

O aparecimento de novas técnicas aplicadas ao estudo e controlo destes factores conduziu ao desenvolvimento de procedimentos fiáveis para a preparação de NPs de praticamente qualquer tamanho e forma mas também a um profundo conhecimento e compreensão de muitas propriedades físico-químicas que determinam o comportamento destes sistemas ^[4,9].

As metodologias existentes para a preparação de NPs são baseadas em dois tipos de processos:

- Físicos – o princípio de formação é o mesmo dos átomos metálicos em fase gasosa, onde ocorre condensação controlada em ambiente adequado e de onde se destaca a técnica de ablação laser como a utilizada mais vulgarmente ^[2,24,25];
- Químicos – a maioria deles conhecidos há décadas, sendo que os mais frequentes usam sais metálicos que são reduzidos em solução na presença de um agente estabilizante

que impede a agregação das NPs formadas, permitindo assim o controlo do tamanho e forma durante a nucleação e crescimento [3,4,9,15].

Os métodos Químicos possuem como vantagens o facto de não necessitarem de equipamento especializado e uma rápida implementação da metodologia [7].

1.2.2. Síntese de nanopartículas metálicas pelo método do citrato

Como referido anteriormente, Michael Faraday [23] foi o primeiro a estudar a formação de NPs de um ponto de vista científico (redução de iões $[\text{AuCl}_4]^-$ utilizando como agente de redução o fósforo em CS_2) tendo surgido no decurso do último século diversos tipos de estratégias mais facilmente manuseáveis que permitem obter diferentes tamanhos e morfologias de partícula (Figura 3) [14,15].

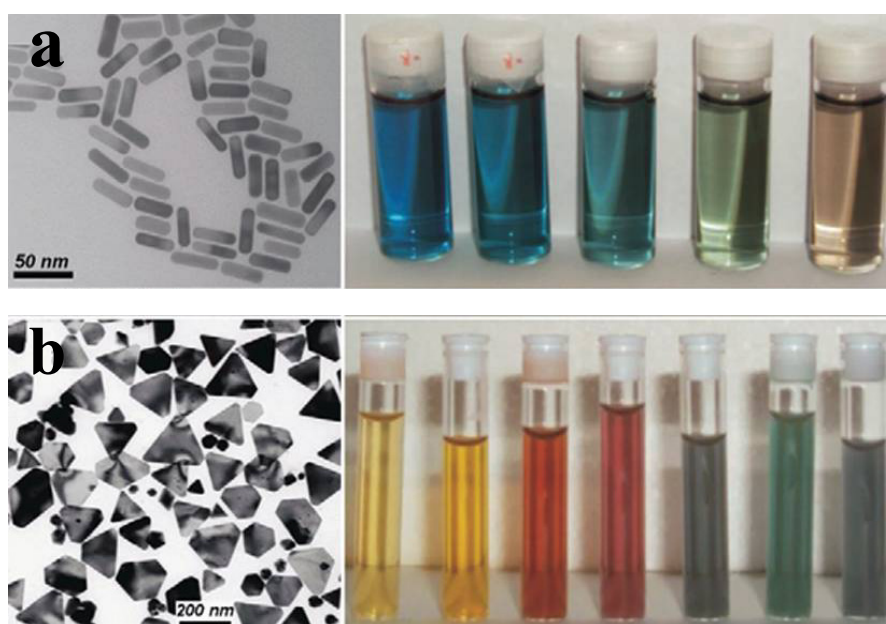


Figura 3 – Variação das propriedades ópticas de nanoestruturas metálicas (a) nanobastonetes de Au e (b) nanoprismas de Ag) em função da morfologia e do tamanho (adaptado da Ref. [4]).

As diferentes metodologias de síntese baseiam-se no controlo da redução dos sais a NPs e podem variar consideravelmente segundo a natureza do sal e sobretudo no tipo de agente redutor ($\text{NaSCN} + \text{K}_2\text{CO}_3$, fósforo branco, ácido ascórbico + K_2CO_3 , PPh_3 , NaBH_4 , citrato de sódio) entre outros parâmetros (velocidade de adição dos reagente, concentração, temperatura, solvente, velocidade de agitação, ...) [2,14].

De entre os chamados métodos de redução de sais, a metodologia introduzida por Turkevitch ^[26] é ainda um dos procedimentos mais aplicados antecedendo os princípios da química verde em várias décadas, uma vez que os reagentes são inócuos e não são produzidos produtos secundários ^[4,7,15].

Nesta metodologia o citrato de sódio em solução aquosa (a quente) reduz o Au (III) dando origem a colóides de Au de tamanho nanométrico. Neste processo o citrato desempenha um papel duplo como agente redutor e como estabilizante caso não seja adicionado outro agente com essa função ^[14,15,25].

A utilização do citrato como agente redutor revelou-se também um instrumento útil na síntese de NPs de prata. No entanto, enquanto na redução de sais de ouro ocorre a formação de NPs esféricas, a reacção análoga com sais de prata leva à formação de partículas de prata (60-200 nm) com uma vasta gama de morfologias (cubos, prismas, bastonetes, ...), dependendo das condições de reacção, devido ao papel adicional do citrato como agente complexante. A formação de complexos citrato-prata influencia o crescimento lento das NPs de prata maiores (Figura 4) através da redução de iões Ag^+ (são oxidados das NPs mais pequenas) na superfície das NPs maiores ^[25,27].

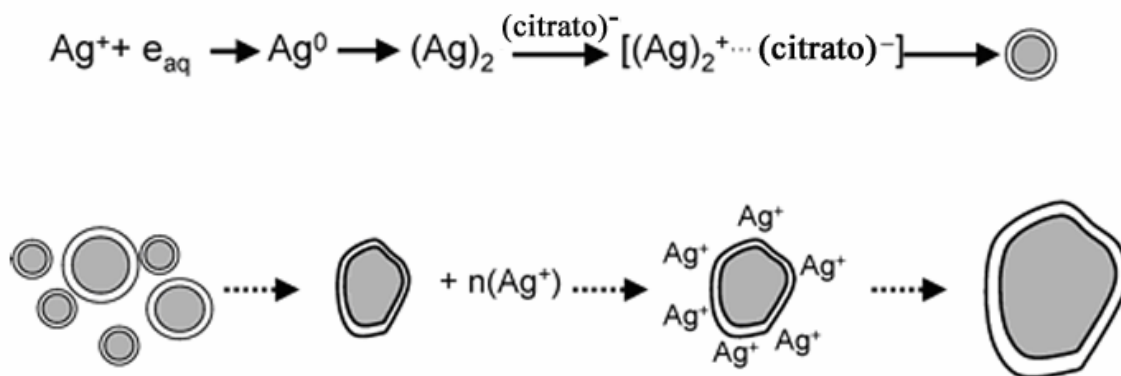


Figura 4 – Esquema da formação e agregação de NPs de Ag pela redução com citrato (adaptado da Ref. ^[27]).

Apesar do interesse prático deste método, a necessidade de uma maior estabilidade e controlo da superfície química das NPs tem impulsionado vários investigadores a explorar alternativas de síntese ^[25]. Têm sido encontradas dezenas de variações possibilitando o aperfeiçoamento da síntese, manipulação e isolamento das NPs. De entre estas metodologias destacam-se a utilização de tióis, devido às fortes ligações covalentes que se estabelecem entre a superfície metálica e estes ligandos, publicada pela primeira vez por Mulvaney e Giersig ^[28] que levou à revolucionária metodologia introduzida por Brust ^[29]

(permitiu pela primeira vez obter NPs de ouro de 1,5 a 5,2 nm) e a utilização de fosfinas introduzida por Schmid ^[30] (permitem a utilização das NPs estabilizadas com este tipo de moléculas em reacções de troca de ligandos).

1.2.3. Modificação superficial de nanopartículas metálicas

A modificação química da superfície das NPs é fundamental para definir o modo como o material vai interagir com o ambiente circundante, quer em solução quer em fase sólida ^[25]. Como já foi referido, um aspecto muito importante a considerar é a estabilização coloidal das NPs de modo a evitar a sua agregação e, assim, controlar algumas das suas propriedades, nomeadamente ópticas ^[12,31,32].

A fim de contornar esses problemas, a utilização de estruturas tipo *core-shell* (sistemas constituídos por duas fases: uma fase interior (*core*, núcleo) revestida completamente por uma segunda fase (*shell*, coroa) que não altera a integridade do núcleo) surge como uma abordagem eficaz ^[8,25]. A preparação de materiais com núcleos metálicos (*core*) susceptíveis à modificação superficial através de uma camada (*shell*), que poderá ser inorgânica, orgânica ou ambas, permitirá conseguir um controlo preciso nomeadamente sobre as propriedades ópticas. As propriedades ópticas das NPs metálicas podem ser assim moldadas através do controlo da composição química, estrutura ou das dimensões da *shell* ^[4,13,32-34].

Uma forma simples de estabelecer este controlo é o revestimento uniforme da superfície das NPs com um material dieléctrico, como por exemplo a sílica. A sílica tem como grandes vantagens, além de impedir a aglomeração das NPs, ser quimicamente inerte e opticamente transparente, sendo por isso utilizada como revestimento numa ampla gama de materiais ^[13,33-35].

A capsulação de NPs de ouro e prata com sílica amorfa foi descrita por Mulvaney et al. ^[35] no qual foi usado um processo em três passos envolvendo um aminosilano terminal como agente de acoplamento de modo a tornar a superfície das NPs vitreofílica. Matijevic ^[36] mais tarde descobriu que também é possível formar revestimentos uniformes de sílica (no caso em NPs de prata) sem ser necessário modificar a sua superfície com qualquer agente de acoplamento. Recentemente, tem-se demonstrado que ligeiras modificações ao método de Stöber ^[37] (sol-gel) podem ser directamente aplicadas ao revestimento de

diferentes tipos de nanopartículas com diferentes morfologias, óxidos e outros tipos de materiais, permitindo obter *shells* de sílica de espessura controlada [2,4,32,38,39].

As vantagens óbvias desta metodologia são que as partículas revestidas possuem uma maior estabilidade podendo sofrer grandes variações de concentração e pH sem agregar, sendo essa uma condição essencial para o desenvolvimento de processos comerciais. Estas também se tornam mais estáveis a temperaturas mais elevadas o que é importante para aplicações que envolvam aumentos de temperatura [11].

1.3. Nanocompósitos

A síntese controlada das NPs abriu as portas para novas aplicações devido não só às suas propriedades intrínsecas mas também pelas propriedades que estas podem desenvolver quando são associadas com outras moléculas orgânicas ou biológicas de modo a formar um único material [40-42].

O interesse nos compósitos está associado à síntese de materiais multifuncionais formados pela mistura de componentes orgânicos e inorgânicos num só material. Normalmente estes materiais designados por compósitos orgânicos-inorgânicos não são simplesmente misturas físicas. Segundo Kelly [43], os compósitos são uma classe de materiais resultantes da combinação de dois ou mais componentes de fases distintas (orgânica, cerâmica ou metálica), sendo os nanocompósitos caracterizados por pelo menos um dos componentes apresentar dimensões na gama nanométrica (1-100 nm).

As propriedades destes resultam não só da soma das contribuições individuais de ambas as fases mas também de efeitos sinérgicos. Neste caso, terá de se ter em consideração o papel relevante da interface. A natureza da interface e, por conseguinte, a natureza das interacções entre os componentes tem sido usada para dividir este tipo de materiais em duas classes distintas [41,42,44].

Classe I: os componentes estão ligados por ligações relativamente fracas (do tipo Van der Waals ou iónicas);

Classe II: as duas fases estão, pelo menos parcialmente, ligadas entre si através de ligações químicas fortes (do tipo covalente).

A fronteira entre estas duas classes é no entanto ténue, ocorrendo materiais que apresentam características comuns às duas categorias [45].

Algumas das aplicações mais conhecidas destes materiais são na indústria das tintas, onde pigmentos inorgânicos são dispersos em componentes orgânicos (solventes, surfactantes, polímeros, etc.), de modo a gerar e/ou melhorar as propriedades mecânicas e ópticas ^[41,42,44]. Embora o nome de materiais compósitos não seja normalmente invocado, o trabalho em estruturas do tipo orgânico-inorgânico tem prosseguido com o desenvolvimento da indústria de polímeros ^[44].

O conceito de nanocompósito orgânico-inorgânico expandiu-se na década de oitenta. Desde então, o estudo dos chamados nanocompósitos funcionais tornou-se um campo inovador de investigação multidisciplinar que produz materiais avançados com elevado valor acrescentado oferecendo uma vasta gama de possibilidades para a elaboração de materiais adaptados às suas necessidades em termos de transformação e de propriedades físico-químicas ^[44].

Nestes materiais cada componente desempenha um papel bem definido dentro da estrutura compósita. Geralmente, a fase inorgânica confere propriedades características (ópticas, electrónicas, magnéticas, mecânicas, ...) que podem ser facilmente moduladas, enquanto a fase orgânica (é de salientar o elevado numero de moléculas e estruturas orgânicas naturais e sintéticas disponíveis comercialmente) irá controlar a reactividade e estabilidade das nanopartículas proporcionando várias interfaces possíveis, como por exemplo, em biologia.

O sinergismo que surge da união dos componentes individuais nos compósitos pode abrir um vasto leque de novas perspectivas no estudo de materiais e novas tecnologias, unindo interesses como facilidades de preparação e processabilidade com propriedades facilmente controláveis.

Hoje, este potencial está a tornar-se realidade e muitos materiais compósitos já entraram em vários nichos de mercado devendo alargar-se no futuro porque novas e mais rigorosas exigências estão agora a ser criadas de modo a conseguir uma melhoria dos nossos níveis de sofisticação, miniaturização e maior harmonia entre o meio ambiente e actividades humanas. Exemplos de alguns materiais já comercializados são os ecrãs dos televisores da Toshiba, os quais são revestidos com corantes incorporados numa matriz de sílica /zircónio, revestimentos para vidros decorativos vendidos pela Spiegelau, ou enzimas capsuladas pelo método sol-gel vendidas pela Fluka ^[41].

Sem qualquer sombra de dúvida, este tipo de materiais, em breve dará origem a membranas inteligentes, novos catalisadores e sensores, a uma nova geração de células fotovoltaicas e pilhas de combustível, aparelhos electrónicos, sistemas e componentes ópticos e inteligentes vectores terapêuticos ^[40-44].

1.3.1. Estratégias de síntese

Independentemente do tipo ou aplicações, bem como da natureza da interface entre componentes orgânicos e inorgânicos, os percursos químicos que são utilizados para a concepção de um determinado material compósito são determinantes nas propriedades finais. Hoje em dia, os químicos podem sintetizar “à medida” diversas espécies moleculares e desenhar novos materiais funcionais com propriedades melhoradas. Com efeito, inúmeros compósitos têm sido obtidos utilizando diversos métodos que permitiram o desenvolvimento de uma “Química Vectorial” que é capaz de dirigir a montagem de uma grande variedade de nano-objectos estruturalmente bem definidos em arquitecturas híbridas complexas ^[44].

O método de mistura simples dos componentes tem sido até agora o mais usado na preparação de compósitos a nível industrial, principalmente em compósitos em que as cargas são estruturas lamelares ou em camadas. Apesar desta técnica ter dado origem a bons resultados de uma forma expedita e económica, a tendência é cada vez maior no sentido de preparar nanocompósitos com uma composição e microestrutura controlada ^[45].

Nesta monografia a preparação de nanocompósitos é abordada segundo duas estratégias principais:

- I) Síntese *in situ* das nanopartículas;**
- II) Deposição camada a camada (LbL).**

Estas metodologias permitem a homogeneidade à escala molecular, tendo por isso vindo a ganhar um papel de destaque nesta área.

1.3.2. Deposição camada a camada (LbL)

As multicamadas de compostos orgânicos sobre superfícies sólidas têm sido objecto de estudo durante os últimos 70 anos devido a estes materiais permitirem o fabrico de estruturas organizadas ^[31,41,42,44,46-51]. Para aproveitar ao máximo as possibilidades que estas estruturas oferecem é necessário ter um controlo da localização e orientação de cada partícula (não só em relação às outras partículas como também ao resto do material).

A metodologia de LbL é uma das técnicas que tem tido maior relevância na preparação de compósitos, oferecendo uma via para o fabrico de materiais multifuncionais com controlo à escala molecular das estruturas estratificadas ^[46]. Inicialmente foi desenvolvida como alternativa à técnica clássica desenvolvida por Langmuir ^[52] e Blodgett ^[53] que durante cerca de 60 anos dominou o fabrico molecular controlado de filmes nanoestruturados, a qual exigia equipamentos especializados e relativamente caros, além de ter graves limitações no que diz respeito à dimensão e topologia do substrato ^[13]. Por estes motivos foi necessário desenvolver um método simples para a produção de películas nanoestruturadas cujo fabrico não dependesse significativamente da natureza, tamanho e topologia do substrato.

Desde os inícios dos anos 90, Decher e colaboradores ^[49-51] desenvolveram esta técnica na construção de materiais por camadas de moléculas que possuem grupos iónicos nas suas cadeias, polielectrólitos ou outras moléculas, através da adsorção camada a camada em soluções aquosas.

Este processo, tal como se mostra na Figura 5, envolve a imersão sequencial e alternada de um substrato em soluções contendo as espécies a serem adsorvidas (polielectrólitos). Durante cada passo de deposição, os polielectrólitos são atraídos electrostaticamente pela última camada de polielectrólitos depositada sobre substrato sólido ou pelo próprio substrato, os quais possuem carga oposta. A superfície é então lavada de modo a remover o polielectrólito em excesso e o filme é posto em contacto com a solução de polielectrólito de carga oposta, iniciando-se um novo ciclo ^[47,49].

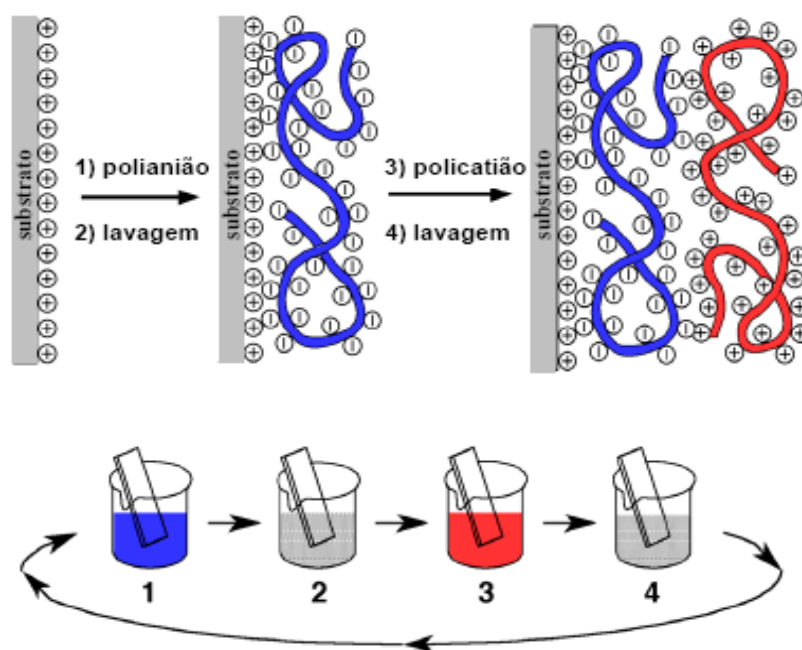


Figura 5 – Representação esquemática do processo de deposição de LbL (adaptado da Ref. ^[49]).

Em princípio, a adsorção destas macromoléculas permite inverter a carga superficial do substrato o que tem consequências importantes; a repulsão de moléculas ou partículas de igual carga e portanto restrição a uma única camada e por outro lado a possibilidade de adsorção de moléculas ou partículas com carga oposta numa segunda etapa sobre a primeira etapa. A repetição cíclica destas etapas de adsorção leva à formação de estruturas estratificadas constituídas por multicamadas ^[47,49].

A espessura de camada é normalmente de 1-10 nm, dependendo de vários parâmetros tais como da força iónica da solução, do pH e em certa medida do peso molecular dos polielectrólitos ^[47].

Desde a sua concepção que esta técnica sofreu uma série de modificações de modo a tornar-se mais simples e mais versátil. O seu uso generalizado deve-se em grande medida à sua simplicidade na preparação de compósitos contendo filmes com uma grande e diversificada gama de materiais, incluindo proteínas e outras moléculas biológicas, polielectrólitos, diferentes tipos de partículas (nanofios, nanobastonetes, nanotubos, óxidos, ...) os quais podem ser depositados em vários tipos de substratos (vidro, quartzo, teflon, formvar, metais, ...) originando uma notável panóplia de materiais. A incorporação de proteínas e outras biomoléculas foi crucial para o desenvolvimento de novas tecnologias como a nanobiotecnologia ^[13,46,47,49-51].

1.4. Celulose

Os polímeros obtidos a partir de fontes renováveis atraíram grande atenção nos últimos anos devido a dois factores: primeiro a maior preocupação ambiental existente hoje em dia e a escassez dos recursos fósseis e consequente aumento do preço destes materiais [54].

A celulose é o polissacarídeo mais abundante na natureza assim como o componente mais importante do "esqueleto" das plantas sendo a base estrutural das paredes celulares de praticamente todas as plantas, fungos e de algumas algas. Este polímero orgânico representa cerca $1,5 \times 10^{12}$ toneladas do total da produção anual de biomassa sendo normalmente considerado uma fonte quase inesgotável de matérias-primas [55-60].

Este polissacarídeo é o constituinte maioritário da madeira de resinosas e folhosas, representando cerca de 40 a 45% da matéria seca da madeira não sendo por isso de estranhar que a pasta de papel continue a ser a fonte mais importante para o processamento deste polímero, o qual na sua maioria é utilizado para a produção de papel e papelão [55,56].

O termo "celulose" como constituinte das plantas foi pela primeira vez utilizado em 1839 num relatório da academia francesa sobre o trabalho de Payen [55]. Muito tempo antes da descoberta do "açúcar da parede celular das plantas", a celulose já era usada como fonte de energia, para a construção e para vestuário. Desde o papiro Egípcio uma parte considerável da nossa cultura foi moldada pelos materiais celulósicos [55].

A sua estrutura molecular concede-lhe propriedades características nomeadamente alta funcionalidade e compatibilidade, degradabilidade, uma ampla capacidade, devido ao seu forte carácter hidrófilo, de modificação química assim como formação de morfologias versáteis [55,58,60].

1.4.1. Estrutura molecular e supramolecular

A celulose é um homopolímero natural composto por unidades de β -D-glucopirranose ((C₆H₁₀O₅)_n) as quais estão ligadas através de ligações glicosídicas β (1-4) (Figura 6).

Este polímero linear com elevado número de grupos hidroxilo (3 por cada unidade de anidroglicose (AGU)) presente em conformação de cadeira ⁴C₁ tem como unidade estrutural a celobiose (1,03 nm). Esta unidade é formada por duas moléculas adjacentes de

D-glucose originadas pela rotação de 180° no plano de cada da unidade de glucose seguinte [55,56].

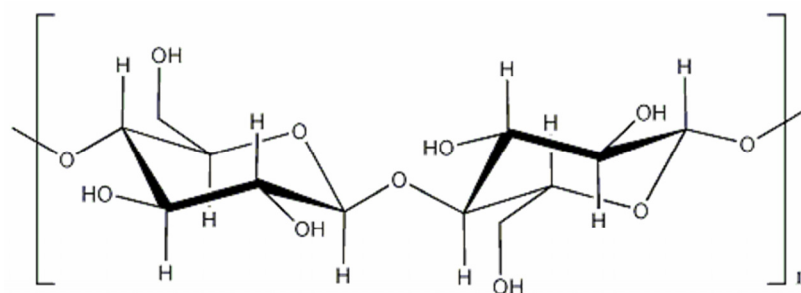


Figura 6 – Estrutura molecular da celulose

O tamanho da cadeia de celulose é dado pelo número de unidades de AGU (grau de polimerização) e varia segundo a origem e tratamento da matéria-prima. No caso da pasta de papel os valores encontram-se caracteristicamente entre os 800 e 1700. O algodão e outras plantas apresentam valores na gama entre 800-10000, dependendo do tratamento. Fibras regeneradas de celulose contêm 250-500 unidades repetidas por cadeia [55].

Cada cadeia de celulose possui numa extremidade uma unidade de D-glucose em que o grupo hidroxilo em C-1 está envolvido na ligação glicosídica β (1-4) (terminal não redutor), contendo a outra extremidade uma unidade com o grupo hidroxilo em C-1 livre em equilíbrio com a estrutura de aldeído (terminal redutor). “Celuloses Técnicas” como a pasta de papel branqueada possuem grupos carbonilo e carboxílicos adicionais como consequência dos processos de isolamento e purificação [55].

A celulose é um polímero com tendência para formar ligações por pontes de hidrogénio intra e inter moleculares (Figura 7). As pontes de hidrogénio intra moleculares estabelecem-se nomeadamente entre os grupos hidroxilo em C-6 de uma unidade de glucose e em C-2 na unidade adjacente e ainda entre o grupo hidroxilo em C-3 e o oxigénio do anel piranosídeo adjacente. Entre cadeias, as pontes de hidrogénio ocorrem através dos grupos hidroxilo em C-3 e C-6 [55,56]. É referida ainda na literatura [61] a ligação entre o grupo hidroxilo em C-6 e o oxigénio envolvido na ligação glicosídica da cadeia adjacente como segunda ponte de hidrogénio inter molecular. Esta ligação adicional só é possível considerando que não é estabelecida a ligação intra molecular referida anteriormente entre os grupos hidroxilo em C-6 e C-2.

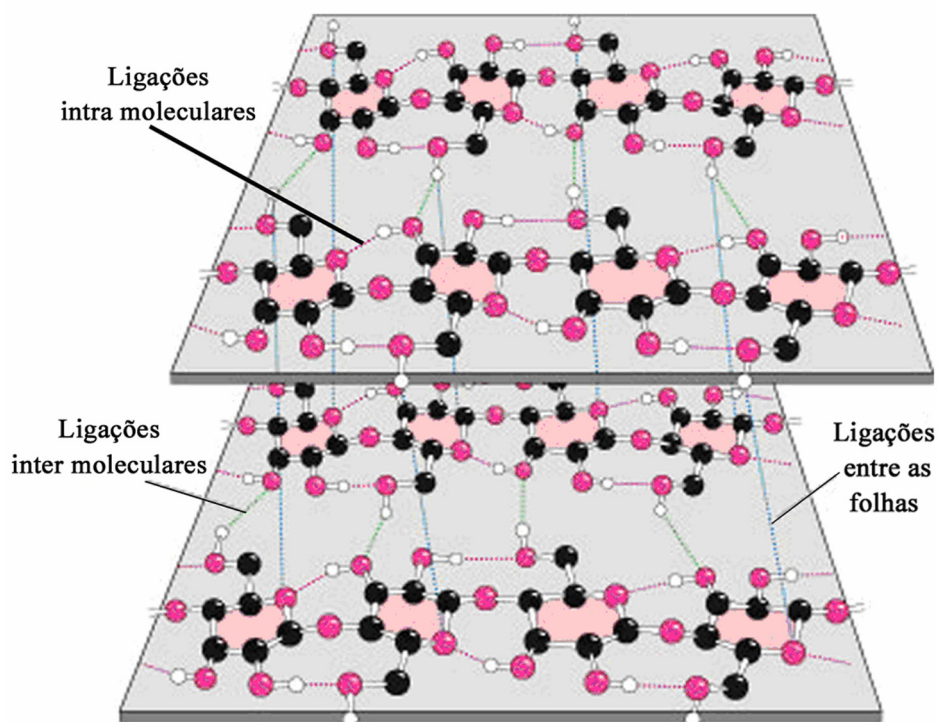


Figura 7 – Estrutura da celulose mostrando as ligações por ponte de hidrogénio entre as folhas (azul), intra moleculares (vermelho) e inter moleculares (verde), (adaptado do site http://web.virginia.edu/Heidi/chapter7/Images/8883n07_27.jpg).

A regularidade espacial dos grupos hidroxilo e o seu envolvimento em pontes de hidrogénio favorece a coesão entre as cadeias e permite a formação de estruturas supramoleculares altamente organizadas. A alta organização supramolecular e elevado grau de polimerização traduz-se na insolubilidade na maior parte dos solventes orgânicos, baixa reactividade e é responsável pela rigidez, densidade, entre outras propriedades mecânicas, tanto da madeira como de fibras de pastas ^[55,56].

A celulose foi o primeiro polímero investigado por difracção de raios X um ano após a descoberta da aplicabilidade desta técnica a materiais cristalinos em 1912 ^[57]. As moléculas de celulose estão agregadas sob a forma de microfibrilas, alternando regiões altamente organizadas (cristalinas) com regiões menos organizadas (amorfas) estando as proporções entre ambas as regiões dependentes da origem das amostras.

A estrutura cristalina da celulose nativa (celulose I) pode ser descrita por um modelo de célula unitária monoclinica a qual contém cadeias de celulose em orientação paralela (Figura 8) ^[55].

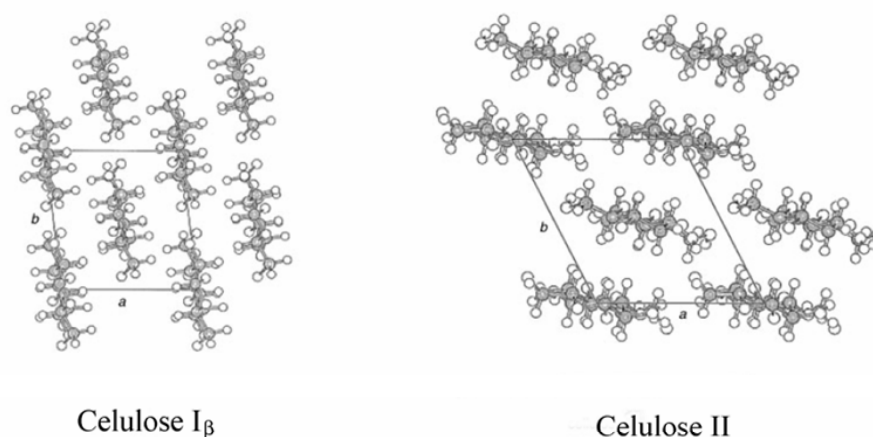


Figura 8 – Estruturas cristalinas da celulose I_β e II (adaptado da Ref. ^[55]).

A celulose nativa encontra-se na forma de dois polimorfos diferentes (I_α e I_β) os quais se podem encontrar um ao lado do outro, sendo a razão entre ambos dependente da origem da celulose. Estudos recentes, revelaram as estruturas cristalinas das celulosas I_α e I_β, apresentando estas células unitárias triclínicas e monoclinicas, respectivamente. Além da estrutura cristalina termodinamicamente menos estável (celulose I), a celulose pode adotar outras estruturas polimórficas (celulose II, III e IV). A celulose II é a estrutura mais estável podendo ser obtida a partir do tratamento da celulose nativa com hidróxido de sódio (mercerização) ou por dissolução e subsequente precipitação/regeneração. As cadeias de celulose II estão, segundo alguns autores e, contrariamente à disposição espacial da celulose nativa, dispostas anti paralelamente ^[55,56].

1.4.2. Organização nas paredes celulares vegetais

A função biológica e outras aplicações da celulose estão baseadas na sua distinta morfologia hierárquica ^[55]. A morfologia hierárquica pode ser assente por fibrilas elementares, microfibrilas e macrofibrilas (Figura 9).

A unidade estrutural organizada de menor dimensão que constitui a fibra é o cristalito elementar, embora nem sempre seja referenciado na literatura e seja assumido, nesse caso, a fibrila elementar como a unidade estrutural mais pequena da fibra. As dimensões das fibrilas elementares são de 3x3 nm e 30 nm de comprimento. O comprimento destas unidades é determinado pela distância entre as zonas amorfas ^[61].

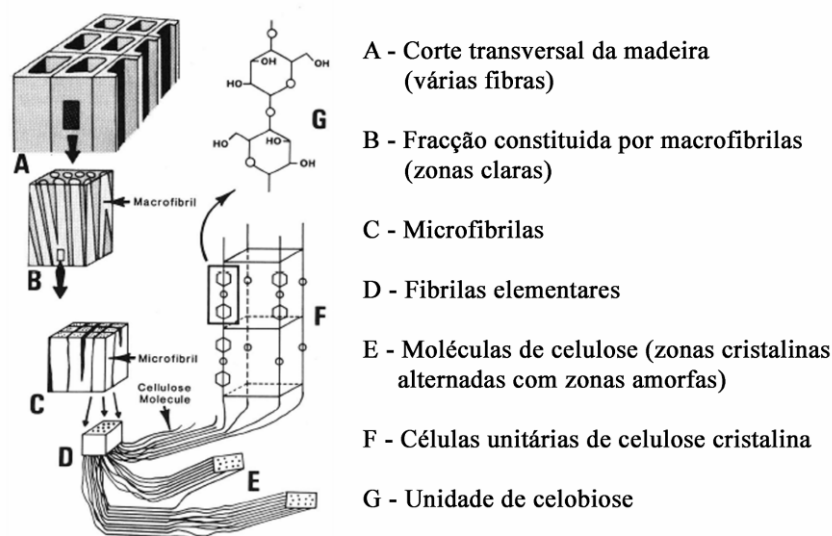


Figura 9 – Representação esquemática da organização da parede celular fibrosa (adaptado da Ref. ^[61]).

As fibrilas elementares associam-se constituindo grupos que, consoante o tamanho, se designam por microfibrilas ou macrofibrilas de celulose (a referência a macrofibrilas é vulgarmente omitida na literatura, por inclusão destas no grupo geral das microfibrilas ou, por vezes, surge como a designação para um conjunto de microfibrilas). As dimensões destas unidades estruturais são de 12x12 nm sendo o comprimento das microfibrilas indefinido ^[61].

Apesar dos diferentes modelos existentes na literatura para descrever a estrutura interna da parede celular é do consenso geral que as microfibrilas estão dispostas numa matriz de hemiceluloses e outros polissacarídeos, estando o conjunto envolvido por lenhina como material aglutinante ^[55,56,61]. Nas fibras utilizadas neste trabalho a maior parte das lenhinas e parte substancial das hemiceluloses foram retiradas durante o processamento industrial utilizado para a sua obtenção.

A nível industrial de pasta e papel, existem duas principais fontes de matéria-prima: árvores gimnospérmicas, conhecidas como resinosas ou *softwoods* (por exemplo pinheiro e abeto) e agiospérmicas dicotiledóneas, conhecidas como folhosas ou *hardwoods* (por exemplo eucalipto e acácia). Estes diferentes tipos de madeiras apresentam diferenças significativas no que se refere à estrutura morfológica (Figura 10) e composição química ^[56,61,62].

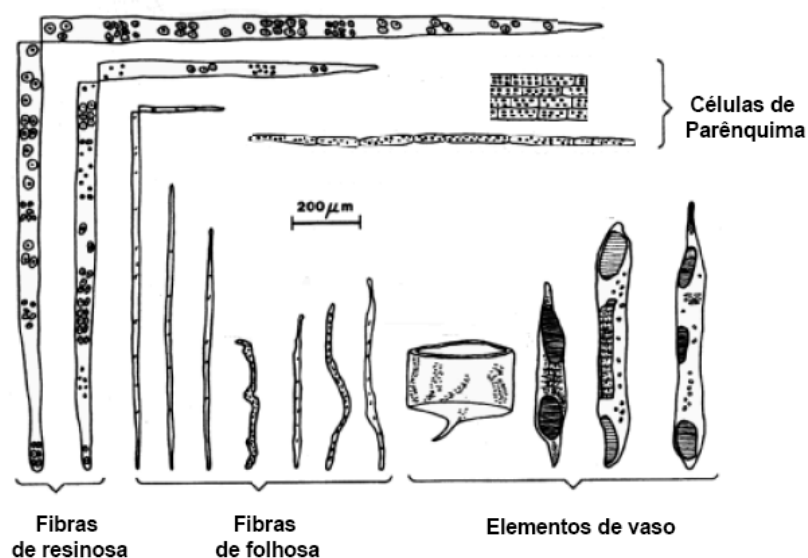


Figura 10 – Principais tipos de células observadas em madeira de resinosas e folhosas (adaptado da Ref. ^[61]).

A madeira de resinosas apresenta uma estrutura simples constituída principalmente por traqueídeos, que representam de 90-95% do volume da madeira. Os traqueídeos são elementos morfológicos longos, cujo comprimento médio varia entre 2-4 mm e diâmetro 20-50 μm , que acumulam as funções de condução e suporte. O parênquima (5-10%), constituído por células agrupadas em feixes orientados radial ou longitudinalmente (raios), possui funções de armazenamento de nutrientes e é pouco abundante ^[56,61,62].

A estrutura da madeira de folhosas possui maior diversidade de elementos morfológicos. Possui elementos de vasos, fibras (células libriformes e traqueídeos) e células de parênquima. As proporções relativas dos tipos de elementos morfológicos são variáveis mas, em média, cerca de 40-70% do volume é constituído por fibras, seguindo-se os vasos (20-40%) e parênquima (10-15%). A percentagem de parênquima, em volume, é superior no caso de madeira de folhosas em relação à madeira de resinosas, o que pode ter efeitos importantes nas propriedades físicas da madeira e nas pastas obtidas de madeira de folhosa. Os elementos de vasos são células simples que asseguram o transporte de fluídos e podem apresentar comprimentos entre 0,3-0,4 mm e o diâmetro varia entre 30 e 130 μm podendo, por isso, apresentar diferentes tamanhos, formas e distribuição consoante as espécies. O comprimento das fibras (1,1-1,2 mm) é mais pequeno do que o de fibras da madeira de resinosas pelo que, por vezes, é utilizada a terminologia madeira de fibra curta e madeira de fibra longa para referir, respectivamente, madeira de folhosas e madeira de resinosas. O diâmetro das fibras pode variar entre os 14-40 μm ^[56,61,62].

1.4.3. Celulose bacteriana

Além do principal método de produção (isolamento a partir das plantas) existem outras formas para obtenção da celulose. Estas incluem a biossíntese através de diferentes tipos de microrganismos (algas, bactérias e fungos), síntese enzimática *in vitro* e a síntese química a partir de derivados da glucose (Figura 11) [22,55,63].

A biossíntese da celulose pode ser realizada por diferentes tipos de microrganismos nomeadamente algas (*Vallonia*), fungos (*Saprolegnia*, *Dictystelium discoideum*) ou bactérias (*Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Alcaligenes*, *Zoogloea*). No entanto, nem todas as espécies de microrganismos estão aptas a sintetizar a celulose como fibras extracelularmente [63].

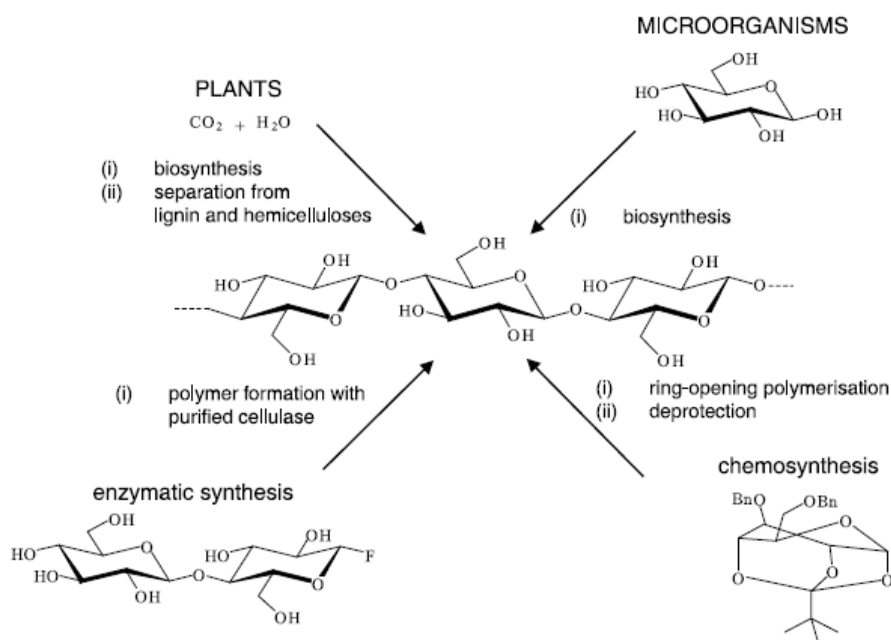


Figura 11 – Principais vias de formação da celulose ([63]).

Entre todas as espécies produtoras de celulose a *Acetobacter* é normalmente a mais adequada à sua produção. Esta simples bactéria do tipo Gram-negativa tem a capacidade de produzir extracelularmente grandes quantidades de celulose de forma organizada [55,64]. Estas bactérias aeróbias e não patogénicas que geralmente se encontram em frutos, vegetais, no vinagre e no sumo de frutas formam uma membrana na interface ar/líquido facilmente isolável utilizando hidratos de carbono existentes no seu meio de nutrição [64].

Esta membrana gelatinosa formada em condições de cultura clássicas é caracterizada por uma estrutura tridimensional composta por uma rede de nanofibras de celulose

(3-8 nm) sendo o tamanho das nanofibrilas consideravelmente menor em relação às fibras vegetais ^[55,63-65].

Apesar da estrutura molecular desta celulose ser idêntica à produzida pelas plantas, apresenta algumas diferenças. Esta nanoestrutura singular é caracterizada pelo elevado grau de pureza (não contém lenhina, hemicelulose, pectina e outros compostos associados à celulose vegetal), elevada cristalinidade (60-90%), grande elasticidade e força mecânica (particularmente quando húmida) e pela estrutura tipo rede 3D ultra fina (Figura 12) ^[55,63-65].

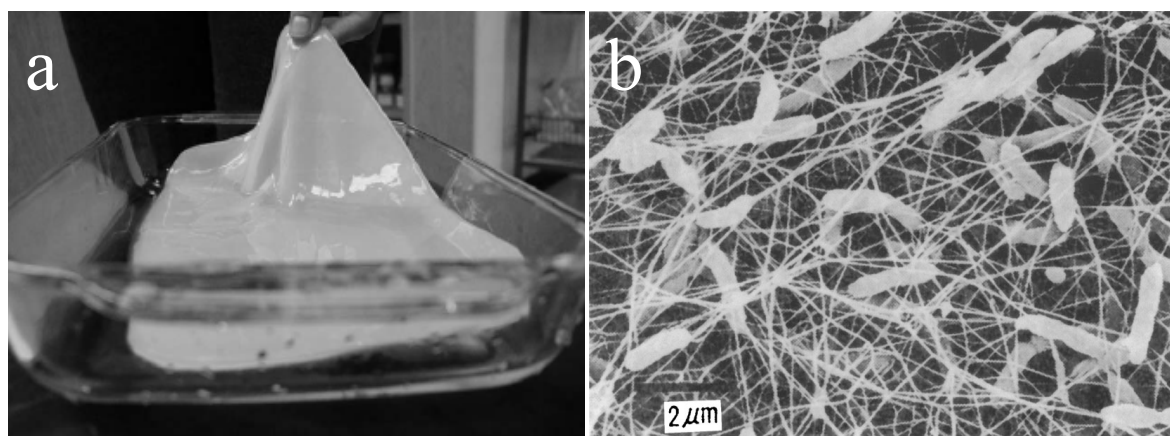


Figura 12 – Celulose Bacteriana: Fotografia (a) e imagem de SEM (b) ^[65].

A celulose bacteriana tem uma elevada capacidade de absorção de água (até 200 vezes a sua massa seca) possuindo um alto teor, superior a 90%. Mediante a remoção completa da água, por secagem ao ar, esta apenas rehidrata em baixa extensão como a celulose vegetal (6%). No entanto, por congelamento e secagem (liofilização) pode absorver até 70% do conteúdo inicial de água por re-intumescimento. Através da troca gradual de água por outros solventes é possível introduzir por exemplo metanol, acetona ou n-hexano mantendo a estrutura intacta ^[55].

Devido à sua nanoestrutura cristalina e microfibrilada possui excelentes propriedades mecânicas sendo por isso apropriada como agente de reforço para o papel e fibras de vidro e carbono, entre outras, em pequenas quantidades (5%) ^[55].

Durante os últimos anos, tem havido um aumento do interesse em aplicações comerciais da celulose bacteriana. Exemplos relevantes abrangem o uso como suporte para proteínas, cultura de células e microrganismos, produtos e tecidos de substituição temporária de pele (BioFill® e Gengiflex®) ou alimentos dietéticos (Nata de Coco) ^[55,63,64].

O reduzido tamanho das nanofibrilas parece ser um factor chave no seu notável desempenho como sistema de cicatrização. Além disso, este material altamente nanoporoso permite a transferência de antibióticos ou outros medicamentos à ferida servindo ao mesmo tempo de barreira física contra qualquer infecção externa ^[64].

Através da selecção das condições de cultivo, aditivos pretendidos e estirpe bacteriana é possível controlar propriedades importantes do biopolímero como o peso molecular e a estrutura, bem como a evolução da biossíntese (nomeadamente a cinética, rendimento e outros produtos metabólicos) ^[64].

1.5. Enquadramento e objectivo deste trabalho

A preparação de novos compósitos não representa apenas uma alternativa para a concepção de novos materiais como abre caminho a aplicações promissoras em diversas áreas, nomeadamente, óptica, catálise, electrónica, mecânica, energia, ambiente, biologia e medicina ^[40,42,44].

Nos últimos anos, a síntese de partículas metálicas de tamanho nanométrico atraiu um enorme interesse devido às propriedades iniciais evidenciadas por estes sistemas. Assim a aplicação controlada deste tipo de partículas em diferentes tipos de substratos permite o controlo de diversas propriedades, nomeadamente ópticas, catalíticas, eléctricas e/ou magnéticas, nos nanocompósitos finais ^[3,9,66].

Hoje em dia, nomeadamente, as NPs de prata são utilizadas como excelentes agentes antimicrobianos ^[22,67] tendo sido já testadas em diversas aplicações práticas ^[22], além de também poderem ser usadas em técnicas de análise química (SERS) ^[8,16]. NPs de ouro são usadas em aplicações ópticas, construção de biosensores e também em catálise ^[2,68],

Embora a literatura existente mostre que a incorporação deste tipo de partículas em diversos substratos sintéticos é um processo muito recorrente, nomeadamente em polímeros sintéticos (PVA ^[69], PEO ^[70], ...), entre outros, a sua utilização em substratos de origem natural é ainda um processo pouco estudado. A diminuição dos recursos fósseis tem levado nos últimos anos a um crescente investimento na procura de fontes alternativas de novos materiais (e energia) a partir de recursos renováveis, garantindo assim o desenvolvimento sustentável.

Tal como se demonstrou anteriormente, a celulose vegetal e bacteriana são biopolímeros que devido às suas propriedades específicas e estruturais apresentam um amplo leque de aplicações destacando-se a utilização em materiais compósitos, para embalagem, fibras têxteis, revestimentos, membranas de separação e especificamente, a celulose bacteriana, no campo da medicina ^[55,64,71].

Tal como descrito por Yu ^[72], Kunitake ^[73] e Zeng ^[74] as fibras celulósicas podem ser usadas como nanoreactores e simultaneamente como estabilizantes de NPs metálicas. Apesar dos escassos trabalhos publicados neste domínio existem alguns estudos publicados que utilizam derivados de celulose (acetato de celulose ^[75] e carboximetilcelulose ^[76]). Mais recentemente, foi dada maior ênfase ao estudo da celulose bacteriana devido à sua aplicabilidade no campo da medicina e cosméticos (dispositivos terapêuticos, substitutos temporários da pele, material de implante, material com libertação controlada de medicamentos, entre outros). Rujiravanit ^[22] verificou que este substrato possui a capacidade para a síntese e incorporação de NPs de prata na sua estrutura.

Também nos laboratórios do CICECO e Departamento de Química da Universidade de Aveiro tem sido investigada a síntese de outros tipos de NPs na presença de fibras celulósicas, recorrendo a diferentes estratégias de síntese ^[31,77]. Como foi demonstrado em todos estes trabalhos, este tipo de substratos, abundantes na natureza, podem servir eficazmente como matrizes biodegradáveis e não tóxicas para formação e/ou deposição de diferentes tipos de NPs. As principais vantagens são sem dúvida o impacto ambiental e ao mesmo tempo económico.

No contexto brevemente apresentado o objectivo geral desta dissertação foi estudar a preparação e as propriedades de diversas nanoestruturas compósitas baseadas em fibras celulósicas e diferentes tipos de NPs metálicas, nomeadamente ouro e prata. Serão investigadas diferentes estratégias preparativas que compreenderão a síntese *in situ* das nanopartículas na presença das matrizes polissacarídicas e a utilização de processos de deposição química (LbL) de modo a verificar de que modo estas estruturas funcionam como suportes na formação controlada das NPs ou como matriz para a sua deposição.

Além das aplicações já apresentadas para este tipo de nanocompósitos (materiais de suporte, papeis especiais, substratos para bioanálise, entre outras), este trabalho permitirá aprofundar alguns aspectos fundamentais ao nível da química de formação de sólidos além do desenvolvimento do conhecimento ao nível fundamental deste tipo de materiais.

Capítulo 2

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho de investigação são apresentados e discutidos nesta secção. Este capítulo é dividido em duas partes tendo em conta os tópicos investigados. Na primeira parte, são apresentados os resultados da preparação e caracterização do sistema celulose/ouro enquanto na segunda parte os do sistema celulose/prata. A preparação destes materiais foi realizada através de distintas metodologias. Os materiais foram posteriormente caracterizados, morfológica e estruturalmente, de modo a avaliar as suas propriedades físicas e químicas tendo em vista aplicações potenciais nomeadamente ao nível de pigmentos e de análise química envolvendo produtos de base celulósica.

2.1. Sistema celulose/ouro

2.1.1. Síntese e caracterização das nanopartículas de Au e de Au@SiO₂

Neste trabalho a síntese das NPs de Au foi obtida através da redução, em meio aquoso, do complexo $[\text{AuCl}_4]^-$ por acção dos iões citrato ^[78]. Este método deu origem a uma solução avermelhada que apresenta uma banda de absorção típica com máximo a 520 nm, indicativa da formação de NPs de Au ^[13] (Figura 13).

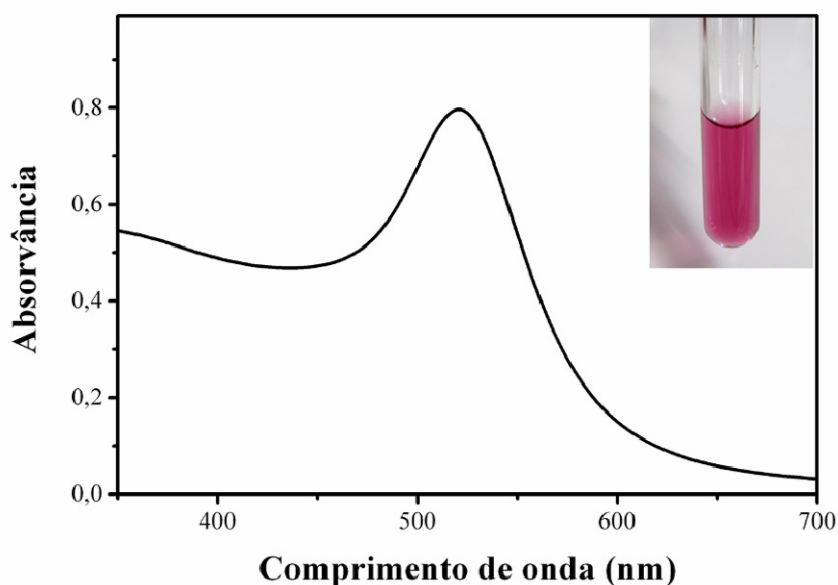


Figura 13 – Espectro de visível de NPs de Au em água e fotografia correspondente à amostra.

O excesso de citrato utilizado estabiliza as partículas devido à dupla camada electrostática repulsiva criada pelos iões citrato adsorvidos à sua superfície dando origem a uma superfície carregada negativamente e impedindo assim a agregação. A estabilidade dos colóides é assim atribuída ao efeito conjunto de interações de Van der Waals e interações electrostáticas ^[25]. Para determinação rigorosa do tamanho das NPs foram utilizadas duas técnicas diferentes (TEM e DLS), sendo o tamanho médio das partículas obtidas de aproximadamente 15 nm em ambos os casos (Figura 14).

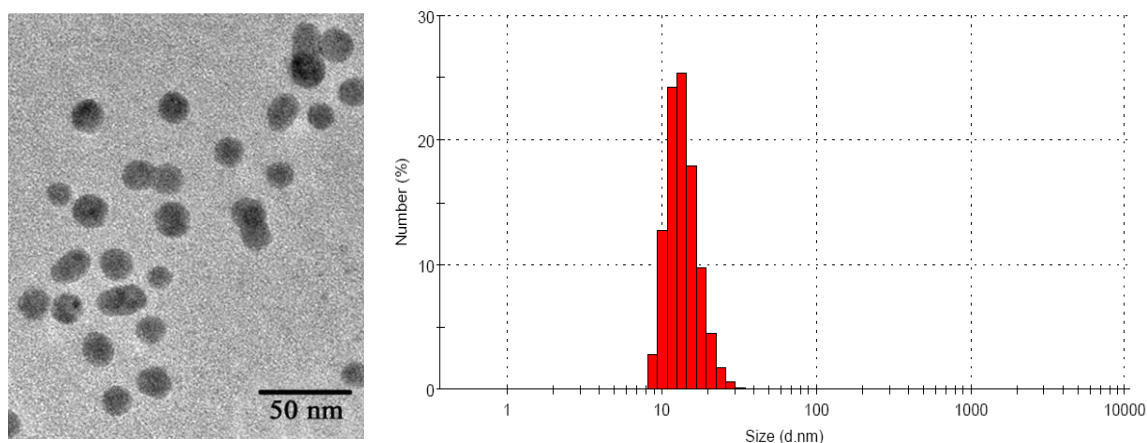


Figura 14 – Imagem de TEM e respectiva análise de DLS da distribuição de tamanhos das NPs de Au.

Normalmente um dos maiores obstáculos às aplicações práticas deste tipo de NPs é que estas são muito sensíveis a mudanças de pH, força iónica do meio e presença de outros materiais orgânicos, o que dificulta a capacidade de modificação da sua superfície e faz com que tenham elevada tendência para agregar provocando alteração das suas propriedades ópticas. Uma estratégia possível para evitar este efeito passa pela modificação superficial das NPs com sílica de modo a impedir a sua aglomeração (Figura 15). Assim sendo, o objectivo de capsular as partículas nanométricas de Au com sílica é poder modular as propriedades ópticas finais.

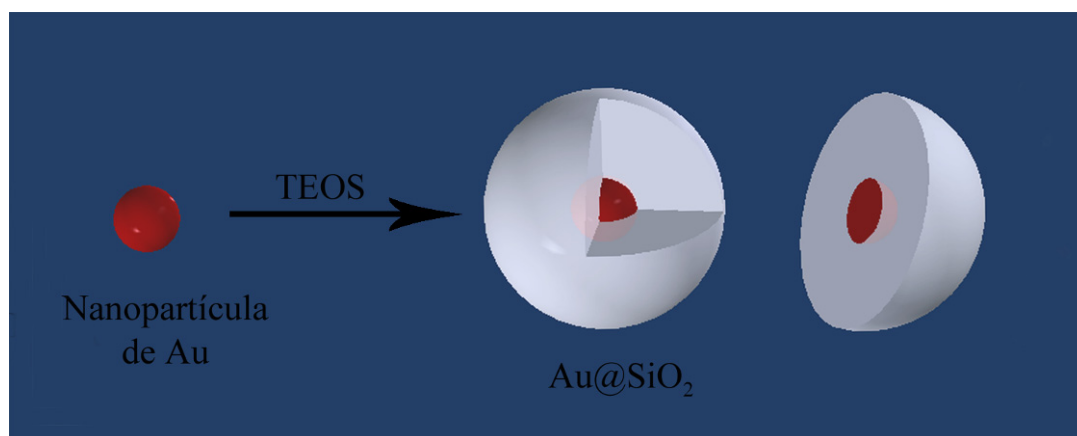
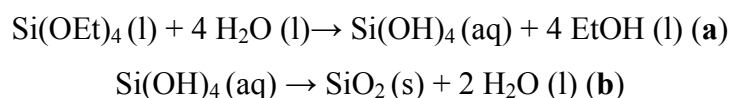


Figura 15 – Representação esquemática do revestimento de NPs de Au com sílica (cortesia de M. Martins)

Segundo Marzán et al. ^[12] consegue-se obter um controlo das propriedades ópticas das NPs de Au controlando a espessura da camada de sílica que as reveste. Este controlo baseia-se na “blindagem” gradual das interacções entre partículas à medida que se aumenta a espessura da camada de sílica (aumento da distância entre as partículas). Para espessuras de camada superiores a 15 nm, a banda de plasmão observada já não depende deste

parâmetro, uma vez que o acoplamento dipolo-dipolo entre os núcleos de ouro está totalmente impedido. O encapsulamento das NPs de Au baseia-se na hidrólise do tetraetilortosilicato (TEOS) e subsequente condensação em meio alcalino ^[79], a qual leva ao crescimento de uma fina camada de sílica amorfa directamente sobre o núcleo metálico sem ser necessário proceder a uma prévia funcionalização da sua superfície, de acordo com a Equação 1. É de salientar que nesta reacção a amónia é usada como catalisador de modo a acelerar a hidrólise do precursor (TEOS).



Equação 1

Este tipo de metodologia na qual não é necessária a funcionalização da superfície das NPs de Au teve imensos benefícios, uma vez que se consegue fazer uma capsulação eficiente sem ser necessário um elevado dispêndio de tempo e de reagentes.

Um aspecto bastante importante na interpretação dos resultados obtidos é a baixa dispersão ao nível do tamanho e forma do núcleo metálico e a uniformidade da espessura da camada de sílica. Estes são requisitos indispensáveis para a obtenção de colóides com propriedades ópticas reprodutíveis. Através da observação das imagens obtidas por TEM (Figura 16) das diferentes NPs de Au@SiO₂ (nomenclatura usada frequentemente quando nos referimos a estruturas do tipo *core-shell*) sintetizadas, pode verificar-se que os núcleos de ouro sintetizados se encontravam monodispersos e a camada de sílica bastante uniforme e compacta.

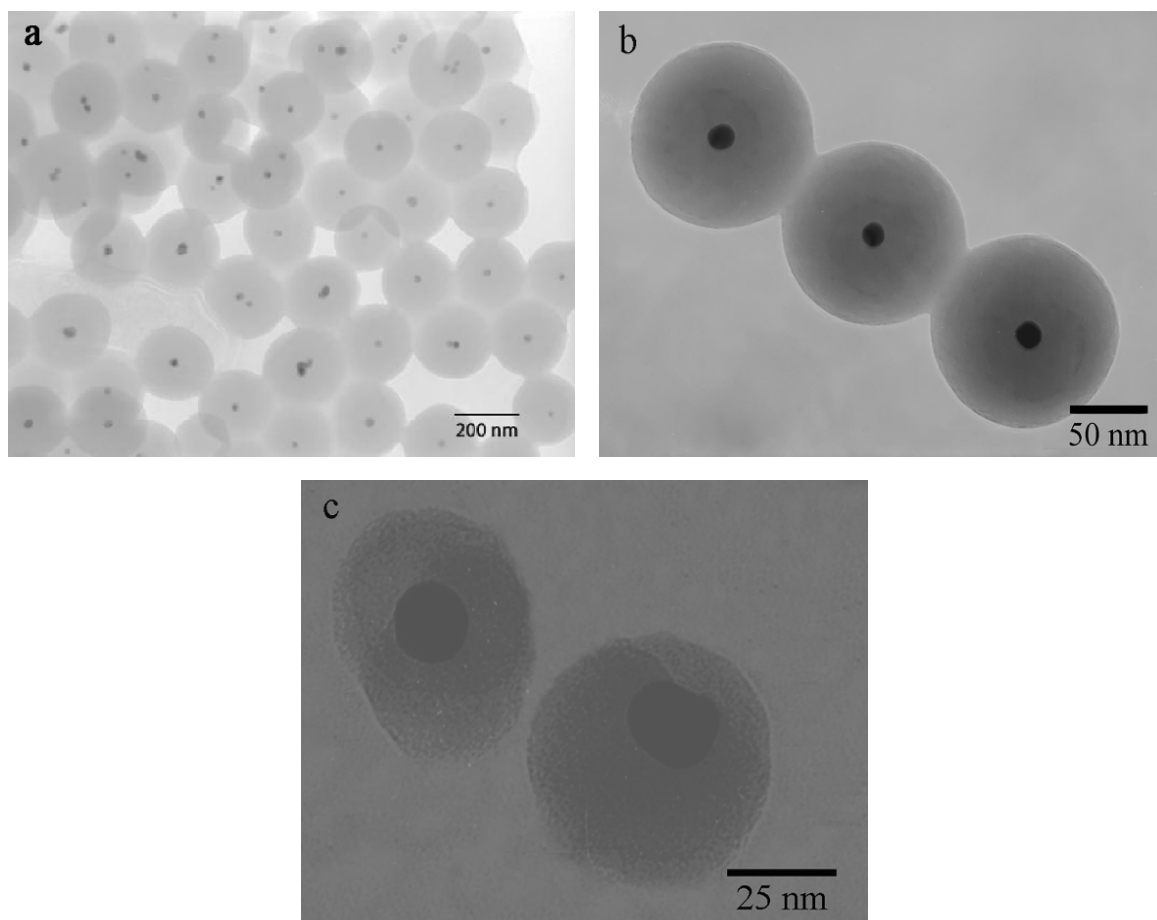


Figura 16 – Imagens de TEM das NPs de Au@SiO₂ com diferentes espessuras da camada de sílica:
a) 110 nm, b) 50 nm e c) 15 nm.

A variação da espessura da camada de sílica foi conseguida através da alteração da concentração inicial de TEOS na solução de etanol em presença das NPs de Au. Assim, para uma concentração de $0,01 \text{ mol.dm}^{-3}$ obteve-se uma camada uniforme de sílica de aproximadamente 110 nm (Figura 16a), para $0,005 \text{ mol.dm}^{-3}$ de 50 nm (Figura 16b), enquanto para $0,001 \text{ mol.dm}^{-3}$ obteve-se uma camada de 15 nm (Figura 16c). Como se pode verificar, à medida que se aumenta a concentração de TEOS consegue-se aumentar a respectiva espessura da camada de sílica.

A caracterização das propriedades ópticas das dispersões aquosas de Au@SiO₂ permitiu verificar que ocorre um ligeiro desvio do pico máximo de absorção para comprimentos de onda superiores quando se procede ao revestimento das NPs de Au (Figura 17) o que está de acordo com o descrito na bibliografia ^[79, 80]. É de salientar, que quando se aumentou o tamanho da espessura de camada de sílica não ocorreu uma variação

muito significativa do valor obtido para o máximo de absorção. Este facto indicou que, dentro desta gama de tamanhos, o comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção não é muito sensível à variação de espessura da camada de sílica, o que está de acordo com o referido por Xia et al.^[79].

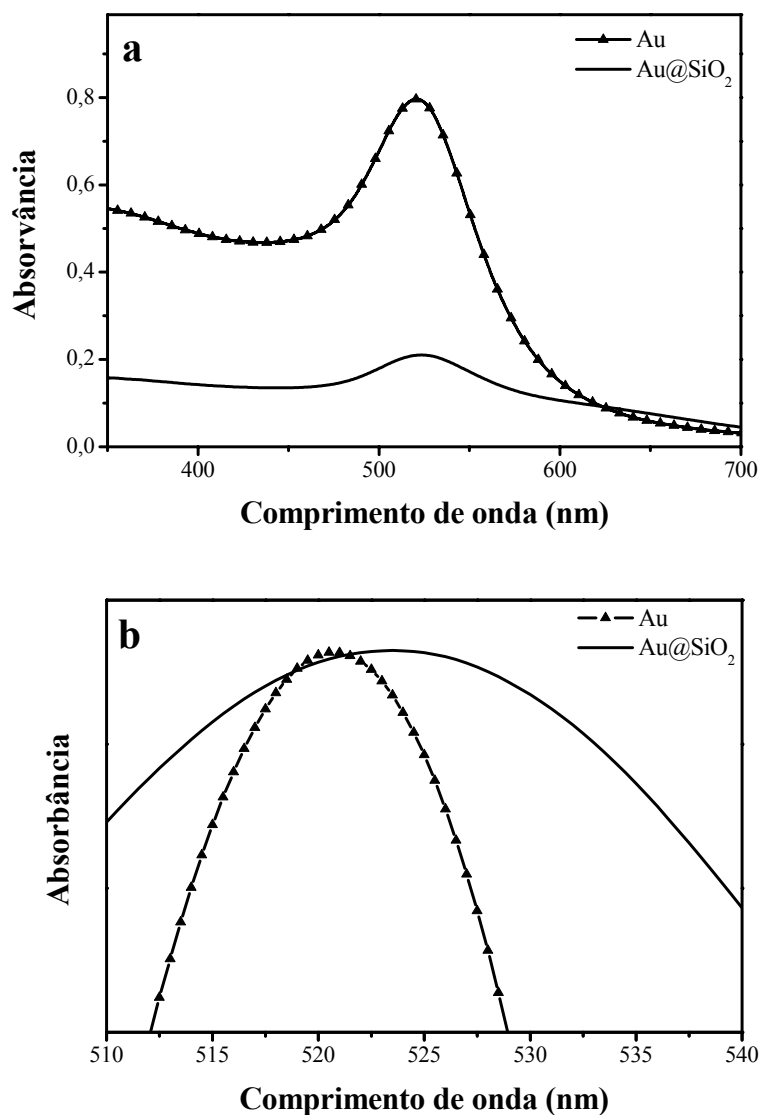


Figura 17 – Espectro de visível das NPs de Au e Au@SiO₂ dispersas em água (a) e detalhe do espectro (b).

O alargamento da banda de absorção, segundo Liz-Marzán et al.^[34], é devido ao aumento do índice de refração à volta das NPs de Au. Este aumento provoca o aumento da absorção a menores λ e, para espessuras de sílica elevadas, o enfraquecimento da intensidade da banda devido a fenómenos de dispersão.

2.1.2. Síntese e caracterização dos nanocompósitos celulose/Au e celulose/Au@SiO₂

2.1.2.1. Preparação dos nanocompósitos através do método de LbL

As fibras de celulose em meio aquoso apresentam carga superficial negativa numa ampla gama de pH devido à presença de unidades ionizáveis tais como grupos hidroxilo e carboxilo resultantes do processamento químico, ou então devido à presença de outros polissacarídeos existentes em menor quantidade como as glucuronoxilanas^[62].

Através da análise de potencial Zeta das NPs de Au ($-34,1 \pm 19,3$ mV a pH 6,33) e Au@SiO₂ ($-33,2 \pm 12,5$ mV a pH 7,63) verificou-se que estas apresentam igualmente carga negativa. Uma vez que ambas as superfícies (celulose, Au e Au@SiO₂) têm carga superficial negativa, torna-se inviável a deposição directa das NPs sobre a celulose. Isto mesmo foi confirmado experimentalmente através da deposição das fibras na solução de NPs para o mesmo tempo de exposição, 15 minutos.

Desta forma, a utilização da técnica de deposição por camada de polielectrólitos (LbL) revelou-se uma estratégia promissora para a preparação dos nanocompósitos pretendidos. Através da adsorção sucessiva de um polielectrólito catiónico (PDDA), um polielectrólito aniónico (PSS) (Figura 18) e novamente polielectrólito catiónico (PDDA) nas fibras celulósicas tornou-se possível a ligação entre as NPs de Au, com e sem revestimento de sílica, e as fibras de celulose (o potencial Zeta das fibras com as camadas PDDA/PSS/PDDA é $+12 \pm 4,3$ mV a pH 6,6).

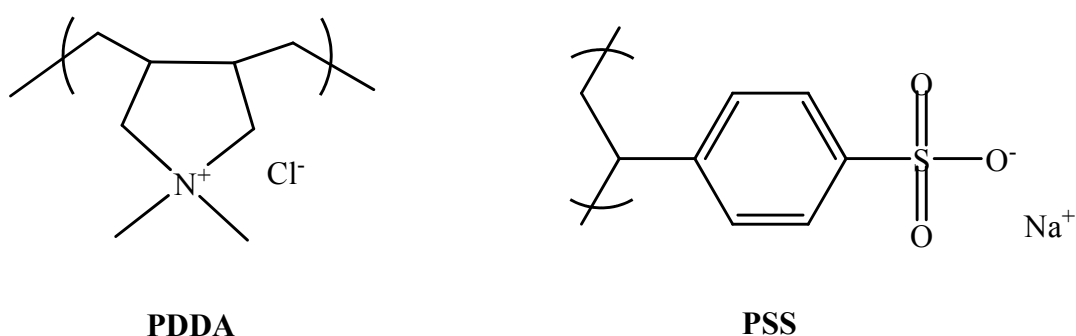


Figura 18 – Estrutura química dos dois polielectrólitos utilizados:

PDDA – poli(cloreto de dialildimetilamónio) e PSS – poli(4-estireno sulfunato de sódio).

Os nanocompósitos foram assim preparados com base nas interações electrostáticas entre as fibras de celulose, polielectrólitos e NPs de Au. Após deposição das NPs de Au sem revestimento na superfície da celulose verificou-se que o nanocompósito final apresentou cor azul. Assim, ocorreu alteração da cor rosa (colóide) para azul (nanocompósito final) devido à aglomeração das NPs de Au na superfície da fibra. Este efeito de aglomeração traduz-se num deslocamento da banda plasmão para energias menores devido à diminuição da distância entre as NPs de Au e consequente aumento das interações dipolo-dipolo entre partículas.

De modo a evitar a coalescência das NPs de Au nos nanocompósitos finais precedeu-se à sua modificação superficial com sílica, conforme indicado anteriormente. A presença de uma camada uniforme de sílica assegura que as NPs de Au no nanocompósito se encontrem suficientemente afastadas de modo a que a frequência de plasmão não sofra desvios. Efectivamente, a cor observada para os nanocompósitos celulósicos preparados com as NPs de Au revestidas manteve-se rosa, cor característica dos colóides de Au iniciais. É de salientar que os nanocompósitos preparados com as diferentes espessuras de camada de sílica deram resultados semelhantes tanto a nível da cor apresentada como do máximo de absorção por UV-vis, optando-se então por utilizar para estudos subsequentes os nanocompósitos celulose/Au@SiO₂ com tamanho de espessura de sílica de 110 nm.

A Figura 19 mostra as imagens das fibras de celulose vegetal (CV) e dos nanocompósitos de CV/Au obtidos para as nanopartículas de Au, com e sem revestimento, após filtração da suspensão do nanocompósito e prensagem.

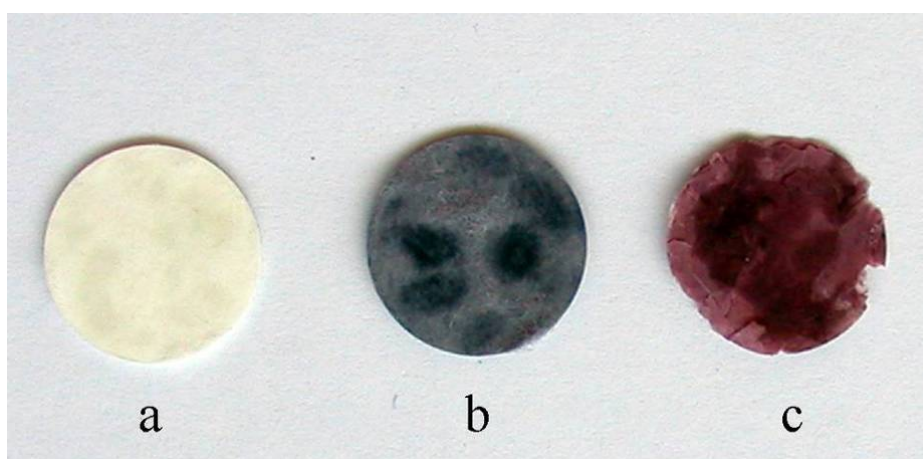


Figura 19 – Fotografia das fibras de a) CV e b) nanocompósitos CV/Au e c) CV/Au@SiO₂.

A Figura 20 mostra os espectros ópticos das fibras de CV e dos nanocompósitos contendo Au. No caso do nanocompósito CV/Au@SiO₂ temos uma banda com um máximo de absorção a 525 nm enquanto no caso do nanocompósito CV/Au observamos o máximo de absorção a um comprimento de onda ligeiramente superior (540 nm).

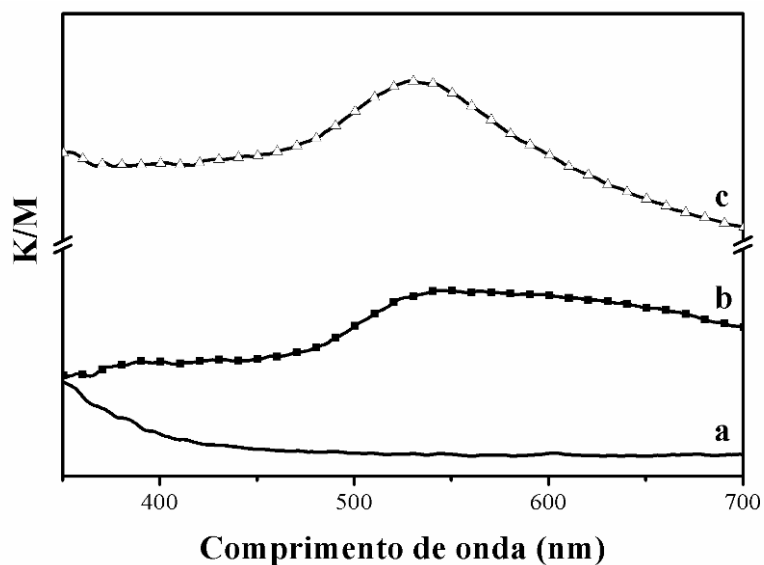


Figura 20 – Espectros ópticos das fibras de a) CV e nanocompósitos b) CV/Au e c) CV/Au@SiO₂.

Tal como discutido anteriormente, verificou-se que quando se passa do colóide de Au para o nanocompósito CV/Au ocorre um desvio do máximo de absorção de 520 para 540 nm. No entanto, quando se parte do colóide de Au@SiO₂ para o nanocompósito CV/Au@SiO₂ o máximo de absorção deste é idêntico ao obtido para a solução coloidal (525 nm), o que está de acordo com o referido por Ung et al.^[13]. Isto sugere que neste caso as interações dipolo-dipolo entre as NPs de Au depositados na superfície da celulose, quando estão revestidas com sílica (nesta gama de espessuras), são praticamente inexistentes. Por conseguinte, o comprimento de onda onde ocorre o máximo de absorção é praticamente inalterado.

A técnica de LbL é aplicada normalmente a substratos homogêneos e regulares (por exemplo substratos de vidro); no entanto, as fibras de celulose são substratos com uma superfície mais irregular. Devido a este facto verificou-se que, no caso dos nanocompósitos CV/Au@SiO₂ preparados há uma distribuição aleatória e irregular das NPs de Au@SiO₂, observando-se fracções com elevado número de partículas e outras com menor abundância (Figura 21).

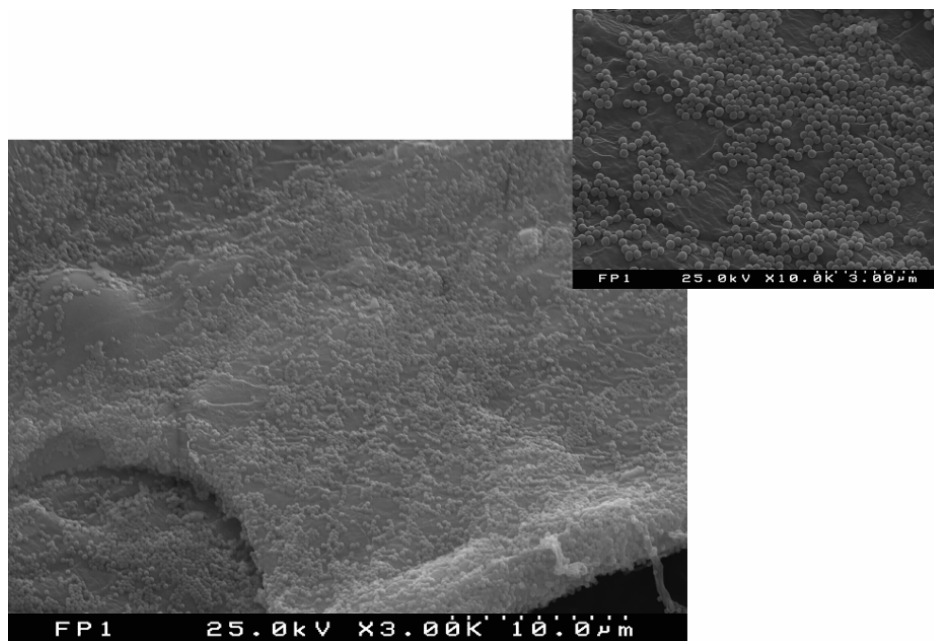


Figura 21 – Imagem de SEM do nanocompósito CV/Au@SiO₂.

No caso do nanocompósito com NPs de Au sem revestimento foi impossível observar a NPs distribuídas pela superfície da celulose. Neste case observou-se que estas formaram um filme nanoestruturado, não sendo possível distinguir as NPs individualizadas (Figura 22).

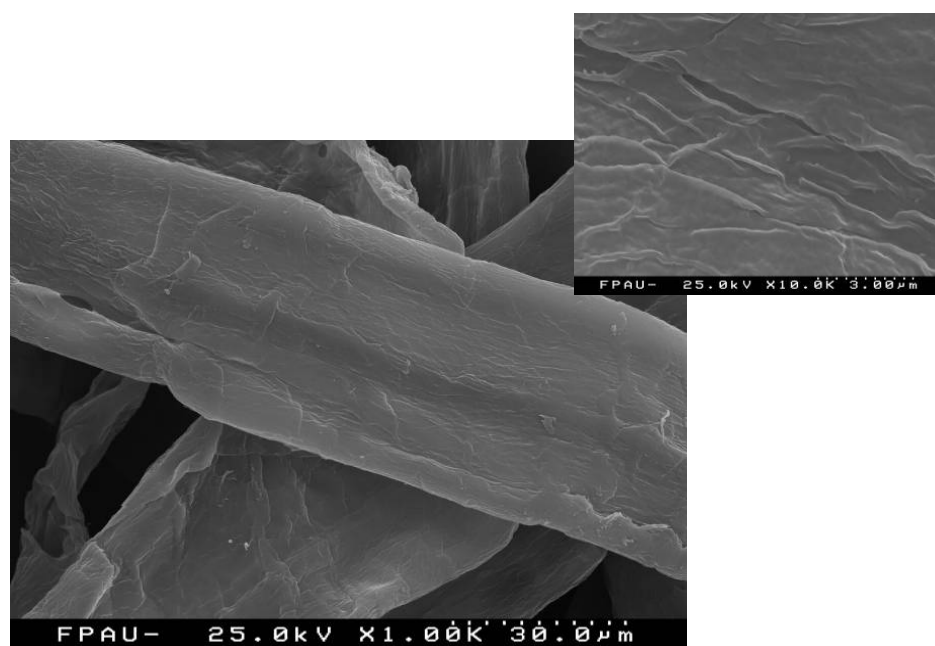


Figura 22 – Imagem de SEM do nanocompósito CV/Au.

A técnica de microscopia de força atômica (AFM) foi utilizada como técnica complementar para a análise superficial dos nanocompósitos. A Figura 23 (a) mostra a disposição aleatória das NPs de Au@SiO₂ na superfície do substrato.

No entanto, esta análise revelou-se mais útil no caso dos nanocompósitos com NPs de Au sem revestimento de sílica (Figura 23 b) pois não foi possível observar, por SEM, a topografia do filme nanoestruturado de Au na superfície das fibras. A análise de AFM deste nanocompósito (CV/Au) permitiu observar a presença de aglomerados de NPs de Au distribuídos também aleatoriamente. É este o facto que provoca a cor observada nestes nanocompósitos (azul), o que está de acordo com o observado por Ung et al. ^[13]

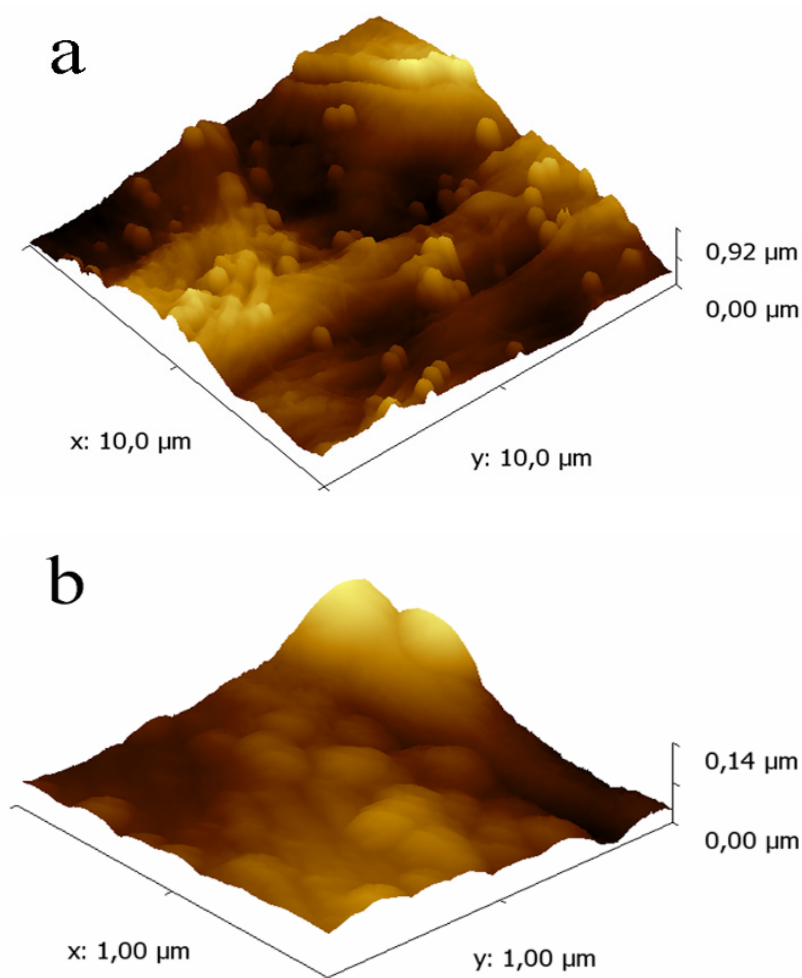


Figura 23 – Imagens 3D de AFM dos nanocompósitos de: (a) CV/Au@SiO₂ e (b) CV/Au.

2.1.2.2. Preparação dos nanocompósitos através da metodologia *in situ*

Neste trabalho, uma segunda abordagem foi testada para a preparação de nanocompósitos celulose/NPs Au. A metodologia *in situ* tem sido referido na literatura [45] como uma das estratégias mais promissoras, e a tendência parece apontar para a sua aplicação a uma gama cada vez mais variada, quer de partículas inorgânicas quer de matrizes poliméricas. Estudos realizados recentemente [31,48,73] mostram que as fibras celulósicas possuem a capacidade de reduzir sais metálicos às nanofases metálicas respectivas, como por exemplo o ouro.

A síntese dos nanocompósitos usando esta metodologia, que consistiu na síntese das NPs na presença das fibras de celulose, originou nanocompósitos homogêneos com coloração azul/violeta (Figura 24). Neste caso, além da CV foram utilizadas fibras de celulose bacteriana (BC) de modo a verificar a influência deste substrato nos processos de nucleação e crescimento das NPs.

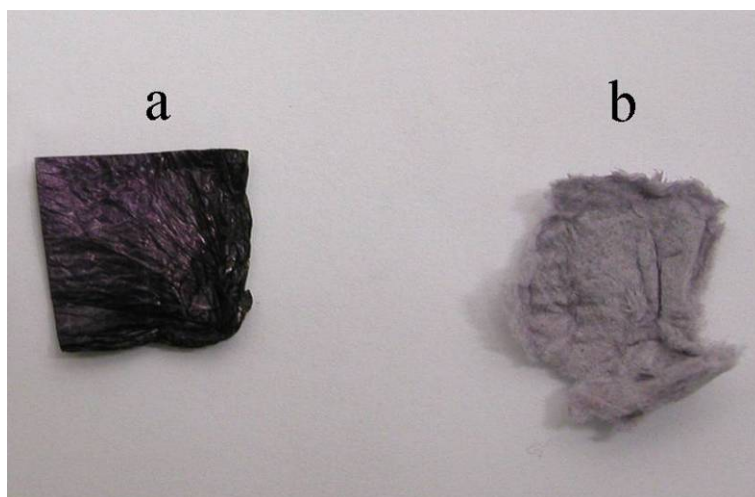


Figura 24 – Fotografia dos nanocompósitos preparados pelo método *in situ* com a) BC e b) CV.

Isto levou a uma primeira conclusão de que usando esta metodologia o aspecto visual das fibras é distinto do observado para os nanocompósitos preparados por LbL, dando assim uma percepção clara da importância da metodologia utilizada nas propriedades finais dos compósitos. Neste caso, este facto também pôde ser confirmado através dos espectros electrónicos (Figura 25). Estes apresentam bandas com máximo de absorção a 540 nm (celulose bacteriana) e a 544 nm (celulose vegetal) mas que se estendem até comprimentos de onda maiores (semelhante ao verificado nos nanocompósitos celulose/Au preparados

por LbL), o que indica a possível presença de interações entre as NPs de Au formadas na superfície das fibras.

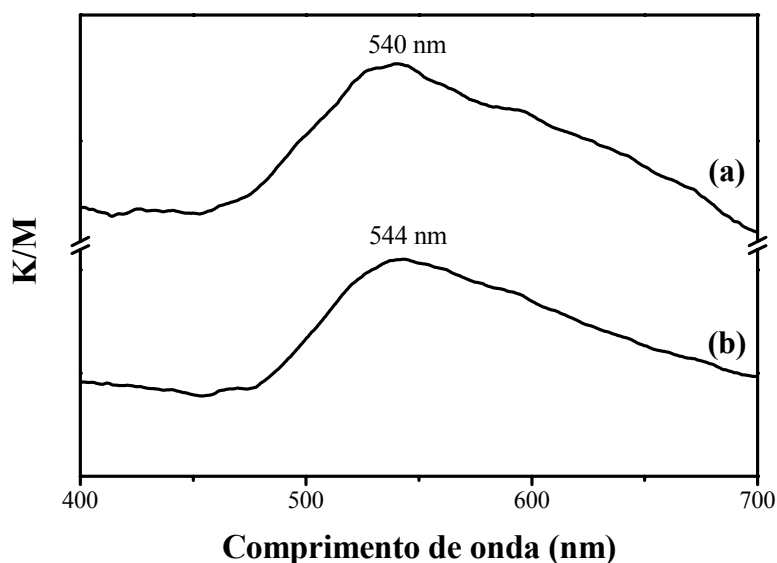


Figura 25 – Espectro óptico do a) nanocompósito BC/Au e b) CV/Au.

A imagem de SEM do nanocompósito celulose BC/Au (Figura 26 a) mostrou que ocorre uma deposição compacta de NPs na superfície das fibras, encontrando-se as NPs de Au de facto muito próximas umas das outras (aglomeradas em muitos casos), permitindo assim uma maior interação entre partículas resultando a cor azul/violeta. No caso do nanocompósito CV/Au (Figura 26 b) a imagem obtida é idêntica à obtida pela metodologia LbL usando as nanopartículas de Au não revestidas, ou seja, formou-se um filme nanoestruturado na superfície das fibras.

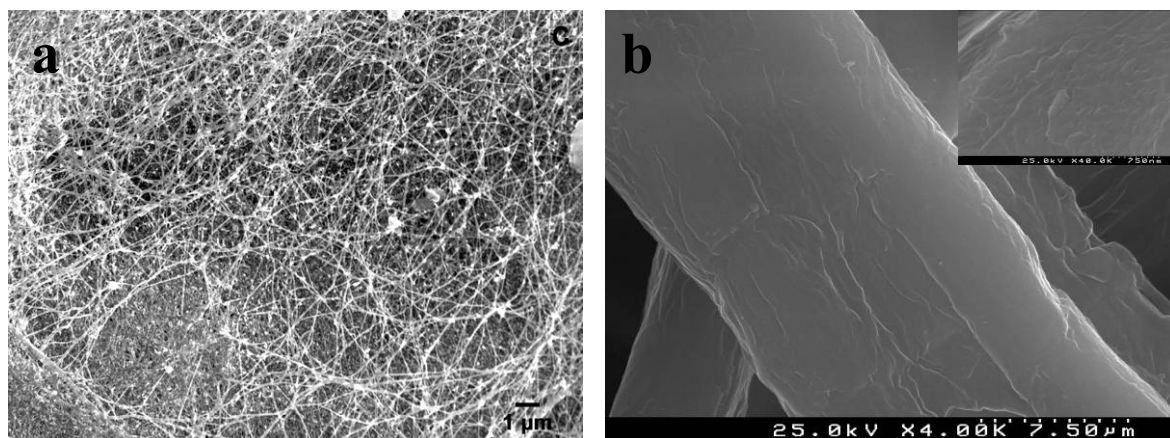


Figura 26 – Imagens de SEM dos nanocompósitos obtidos pelo método *in situ*: a) BC/Au e b) CV/Au.

A análise de AFM, no caso do nanocompósito com BC, mostrou claramente as NPs de Au fixadas na superfície das fibras estando estas, em alguns casos, aglomeradas entre si (Figura 27). Pode-se observar que a distribuição das NPs de Au na superfície das fibras de BC é aleatória e irregular.

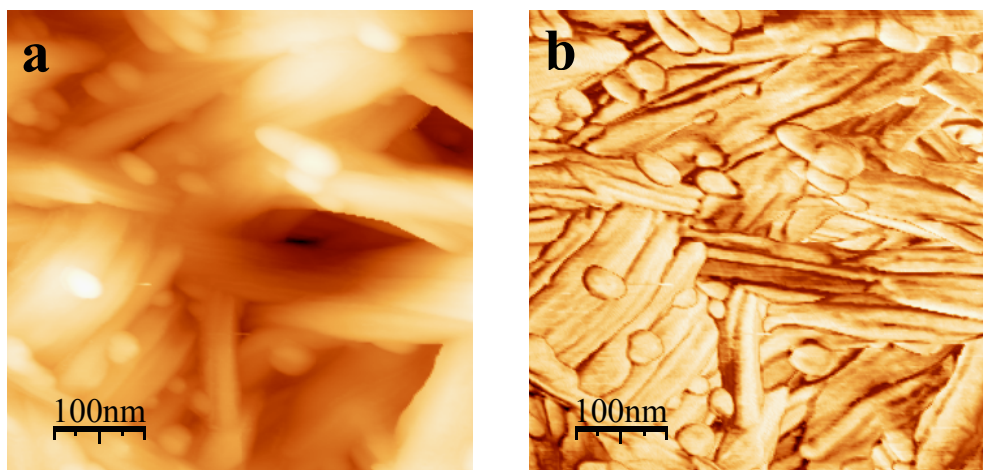


Figura 27 – Imagens de AFM do nanocompósito BC/Au preparados pela metodologia *in situ*: a) topografia e b) fase.

Para o nanocompósito com CV as imagens de AFM permitiram concluir, de igual modo ao verificado para o nanocompósito CV/Au preparado por LbL, a presença de aglomerados de NPs de Au. Este facto confirma o observado nas imagens de SEM, ou seja, a formação de um filme nanoestruturado de Au na superfície das fibras da CV.

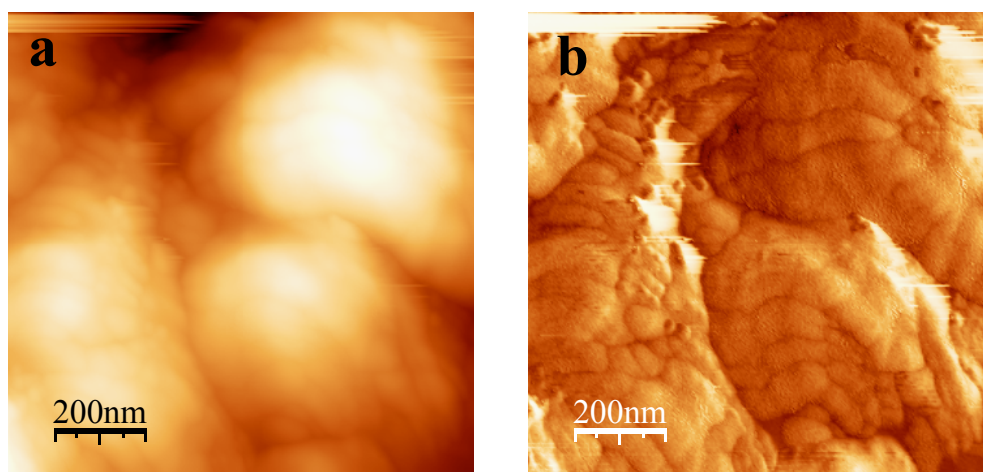


Figura 28 – Imagens de AFM do nanocompósito CV/Au preparados pela metodologia *in situ*: a) topografia e b) fase.

Apesar do mecanismo envolvido na redução dos sais metálicos na superfície da celulose não ser completamente compreendido o facto é que, na ausência de polielectrólitos, as NPs geradas *in situ* fixaram-se na superfície das fibras o que sugere que durante a nucleação e crescimento das NPs na presença das fibras de celulose, outro mecanismo, além da atracção electrostática, necessita de estar presente.

Uma explicação possível para este processo é a de que a própria estrutura nanoporosa das fibras celulósicas poderá funcionar como nanoreactor, promovendo a redução dos iões Au (III) a Au⁰ por intermédio dos terminais redutores (grupos carbonilos) das fibras. De modo a testar esta hipótese, realizou-se a síntese das NPs de Au na presença de ambas as fibras (CV e BC) na ausência de citrato de sódio. Efectivamente, verificou-se o aparecimento de cor azul/violeta na superfície das fibras, o que sugere a redução dos iões Au (III) por acção da celulose.

Sendo assim, pensa-se que ocorra, numa primeira fase a difusão de iões para a superfície das fibras de celulose promovendo uma complexação dos iões Au (III) com determinados grupos existentes na celulose, nomeadamente grupos carboxilos, e num segundo passo a redução destes iões a Au metálico, promovida pelos terminais redutores das moléculas de celulose. É de salientar, que neste caso, a redução do ouro se verificou apenas à superfície da celulose, tendo a solução aquosa sobrenadante permanecido incolor. Pelo contrário, quando se utiliza o citrato como agente redutor, observa-se a formação de NPs de Au quer na superfície da fibra, quer na solução sobrenadante que adquire uma cor rosa.

Este facto está de acordo com o observado por Yu ^[72], Kunitake ^[73] e Zeng ^[74] que referem que os átomos de oxigénio dos grupos éter e hidroxilo existentes na celulose não só prendem os iões metálicos, por meio de interacções ião-dipolo, como estabilizam as NPs à sua superfície. Ao contrário do referido por estes autores, pensamos que isto ocorra por meio de ligações covalentes dativas.

Os materiais compósitos aqui preparados foram submetidos a várias lavagens, com agitação vigorosa, sem que se tenha verificado a libertação de NPs para a solução. Este facto sugere que efectivamente ocorre uma interacção entre as as fibras celulósicas e as NPs de Au.

A difracção de raios X (XRD) foi usada de modo a identificar a estrutura das fases cristalinas presentes nos compósitos finais. A Figura 29 mostra os difractogramas do

nanocompósito CV/Au em conjunto com o obtido para as fibras de celulose vegetal. Como se pode observar pela ampliação do difractograma do nanocompósito, surgem dois dos picos de difracção característicos da estrutura cúbica de faces centradas das NPs de Au a $2\theta = 38,4^\circ$ e a $44,6^\circ$ atribuídos aos planos (111) e (200) ^[81], confirmando assim a presença de NPs cristalinas de Au no nanocompósito. Por outro lado, observaram-se os picos de difracção da celulose I a $2\theta = 14,9; 16,3; 22,5$ e $34,6^\circ$ atribuídos aos planos (101), (10 $\bar{1}$), (002) e (040) ^[82].

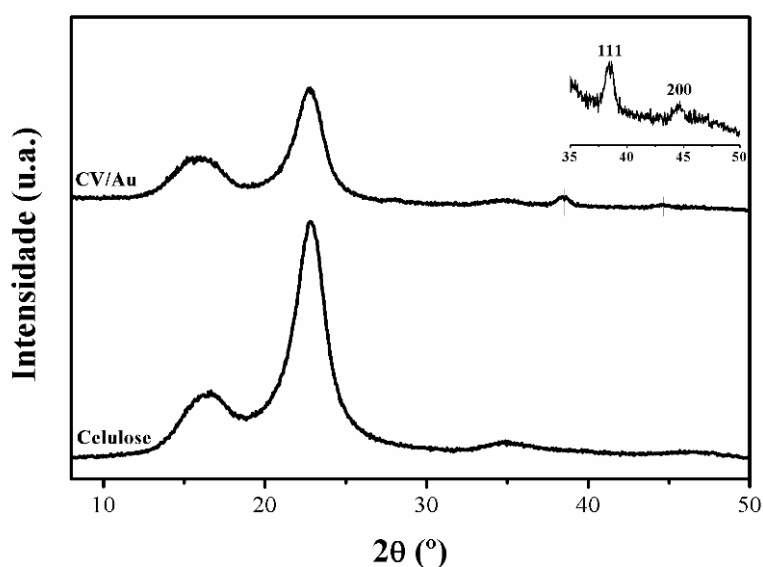


Figura 29 – Difractogramas de raios X da celulose e do nanocompósito CV/Au obtido pela metodologia *in situ* com citrato.

Ambos os nanocompósitos (com celulose vegetal ou com celulose bacteriana) apresentaram difractogramas de raios X semelhantes diferindo apenas nas intensidades dos picos das fases referentes à estrutura cristalina da celulose I, que se podem observar a baixos ângulos de 2θ .

Conclui-se assim que é possível realizar-se a redução de Au (III) à superfície da celulose (BC ou CV) na presença ou ausência de citrato.

2.1.2.3. Preparação dos nanocompósitos através de difusão

Sendo a BC uma matriz hidrofílica, com uma nanoestrutura interna com capacidade de incorporar metais finamente divididos ^[48], pensou-se em estudar a incorporação das NPs de Au na sua estrutura através de um simples processo de difusão. Contendo este substrato

aproximadamente 95% de água, esta experiência equivale a colocar uma membrana flexível que separa o colóide da água existente no seu interior. Após a imersão deste substrato nos colóides de Au (sem revestimento de sílica) verificou-se a migração das NPs para o interior da sua estrutura dando origem a um nanocompósito com uma forte coloração rosa (Figura 30). De facto, a imagem de SEM do nanocompósito liofilizado confirmou a presença de NPs dispersas na estrutura da BC.

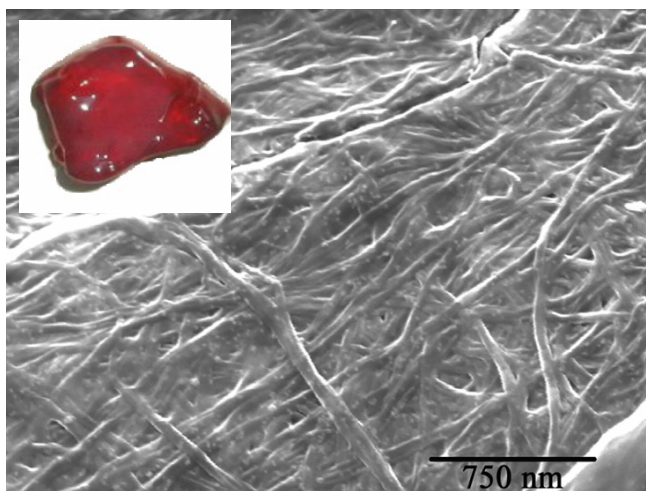


Figura 30 – Imagem de SEM do nanocompósito BC/Au obtido por difusão e fotografia correspondente à amostra.

A migração das nanopartículas pode ser explicada por um processo de difusão de massa. É de salientar que, em comparação, quando as fibras de celulose vegetal são submetidas ao mesmo tratamento não se observou qualquer tipo de ligação entre as NPs de Au e as fibras de celulose.

A reversibilidade deste processo foi testada através da imersão do nanocompósito preparado em água destilada, pelo período de um mês, não se tendo observado migração de NPs para o exterior do substrato. Este facto permitiu concluir que as fibras de celulose bacteriana não só permitem a incorporação de NPs dentro da sua nanoestrutura como também as retêm no seu interior. A sua estrutura porosa composta por uma rede tridimensional de nanofibrilas pode actuar como “gaiolas” favorecendo assim o alojamento das NPs de Au no interior da estrutura.

Apesar da abordagem de LbL a membranas de BC também ser possível, a sua estrutura interna peculiar torna este substrato mais atraente para outros tipos de abordagens, nomeadamente a difusão, onde a simples imersão desta matriz numa solução de NPs dá origem a nanocompósitos bastante interessantes.

2.1.3. Possíveis aplicações

Estes nanocompósitos sintetizados neste trabalho poderão ser particularmente interessante ao nível do fabrico de materiais e papéis para aplicações específicas.

No caso de papéis com aplicações de específicas é de salientar a possível utilização em segurança onde por exemplo a utilização deste tipo de partículas em papel poderá ser um meio de luta contra a falsificação.

Este tipo de procedimento também poderá ser estendido a outras fibras, nomeadamente têxteis. As diferenças de cores, obtidas através das diferentes metodologias e revestimento ou não das NPS de Au, são muito interessantes quando se pensa na sua aplicabilidade como corantes estáveis por exemplo em lã e fibras sintéticas. A utilização deste tipo de partículas poderá ter como grandes vantagens o não desbotar ou descolorar na presença de luz, ao contrário dos corantes orgânicos.

A aplicabilidade das metodologias a outros tipos de polissacarídeos, como foi verificada com a BC, poderá originar a uma vasta gama de nanocompósitos com aplicações na medicina como por exemplo em materiais de liberação controlada de medicamentos ou a nível da indústria cosmética.

A possibilidade de modificação da superfície das NPs de Au com diversos tipos de moléculas orgânicas antes da ligação às fibras abre perspectivas de utilização destes nanocompósitos como biosensores para várias moléculas (proteínas, enzimas, ...) ou como membranas selectivas.

Sendo a celulose um óptimo substrato para incorporação das NPs de Au, como foi demonstrado, alarga o campo de aplicabilidade práticas à vasta de gama de aplicações ligadas propriedades específicas das NPs de Ouro (nomeadamente ópticas), mas ao mesmo tempo às vantagens decorrentes da utilização de substratos naturais.

2.2. Sistema celulose/prata

2.2.1. Síntese e caracterização de nanopartículas de Ag e Ag@SiO₂

A morfologia e tamanho de NPs de Ag dependem consideravelmente do método utilizado na sua preparação. Neste trabalho, as NPs de Ag foram preparadas utilizando dois dos métodos mais comuns baseados na redução de sais de Ag (I) nomeadamente o método de Creighton (também conhecido por método do borohidreto) e o método de Lee-Meisel (também conhecido pelo método do citrato) [27].

A Figura 31 mostra os espectros de absorção e respectiva imagem dos colóides preparados por estes dois métodos. Como se pode observar, ambos os métodos dão origem a soluções coloidais amareladas. No caso da redução pelo NaBH₄ obtém-se uma banda com um máximo de absorção centrada a 392 nm enquanto para o caso da redução pelo citrato obtém-se uma banda com um máximo centrado a 411 nm.

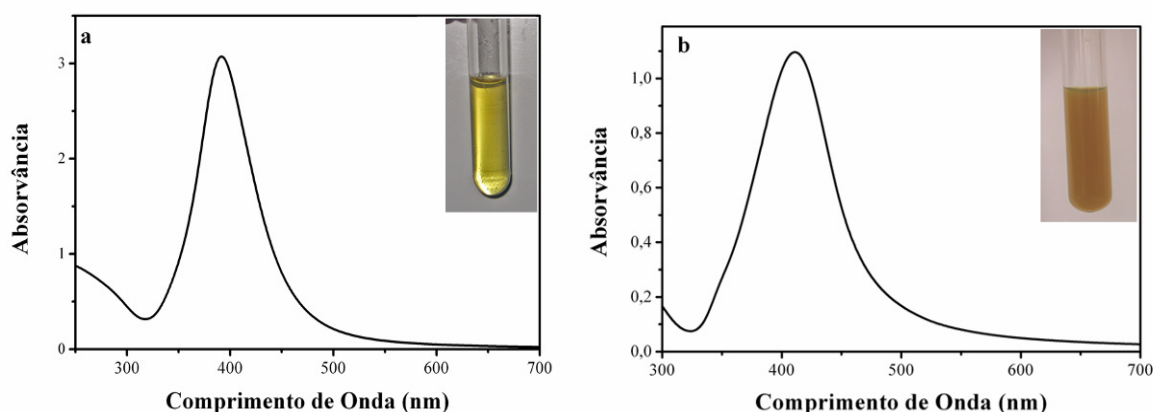


Figura 31 – Espectros de UV-vis de colóides de Ag e correspondentes imagens em solução: redução por a) NaBH₄ e b) citrato de sódio.

Estes dois métodos originam diferenças no tamanho das NPs de Ag obtidas originando diferentes larguras de banda. O tamanho de partícula foi estimado por análise de TEM e DLS (Figura 32).

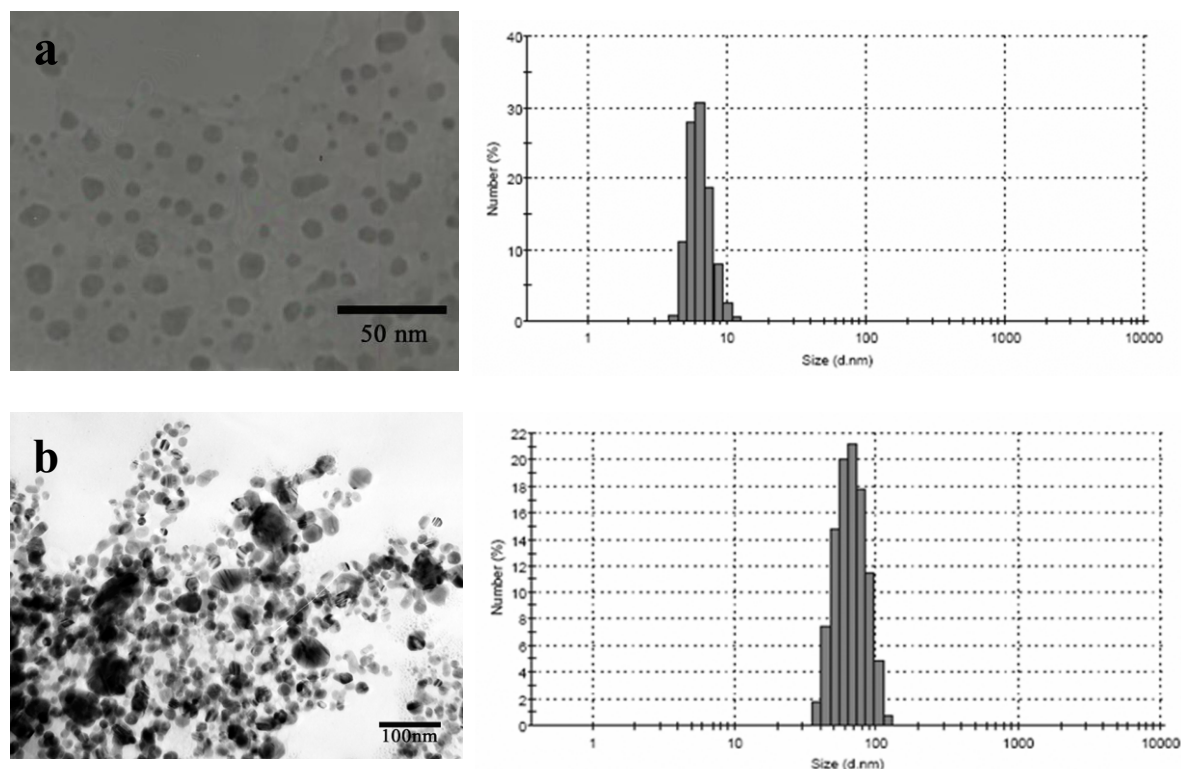


Figura 32 – Imagem de TEM e respectiva análise de DLS da distribuição de tamanhos das NPs de Ag preparadas por redução com a) NaBH₄ e b) citrato de sódio.

Através da análise de TEM observou-se que ambos os métodos originam partículas esféricas sendo que para o NaBH₄ o tamanho médio de partícula foi de $7,28 \pm 1,13$ nm enquanto para o citrato de sódio foi de $77,0 \pm 33,7$ nm. A análise de DLS permitiu confirmar a distribuição de tamanhos de partícula, no caso da redução pelo NaBH₄ obtém-se uma gama de tamanhos entre 3-12 nm e no caso do citrato então 38-122 nm.

Como se conclui, para iguais condições experimentais, as NPs de Ag obtidas na presença do citrato apresentam tamanhos superiores às obtidas na presença NaBH₄. Estudos realizados demonstram que o aumento da concentração de citrato diminui drasticamente a formação de “sementes” e promove simultaneamente o crescimento de partículas maiores. Isto contrasta com a redução de sais de ouro (III) onde o aumento da razão molar citrato/sal de Au conduz a menores tamanhos de NPs [25,27].

Tal como referido na literatura [27], o tamanho obtido para o método do citrato, no caso da redução do sal de Au (III) permite obter NPs com tamanhos médios de 15 nm enquanto que para a redução do sal de Ag (I) o tamanho obtido é superior (77 nm).

Procedeu-se novamente à tentativa de revestimento das NPs de Ag, com uma camada de sílica nanométrica, de maneira a controlar as propriedades ópticas finais dos nanocompósitos.

Tal como referido no caso das NPs Au@SiO₂, a síntese das NPs de Ag@SiO₂ foi realizada através da reacção de hidrólise de TEOS em etanol/H₂O na presença de NPs de Ag estabilizadas pelos iões citrato. A espessura da camada de sílica foi controlada através da concentração de TEOS na mistura reaccional.

Neste caso o catalisador (amónia) foi substituído por outra amina (dimetilamina) devido ao facto, de a adição de amónia ao colóide de Ag promover uma rápida diminuição da coloração da solução coloidal (amarela) assim como aparecimento de uma coloração vermelha-turva. Este facto, também observado por outros grupos ^[32,33], poderá dever-se à oxidação da Ag a Ag⁺ que na presença da amónia forma complexos [Ag(NH₃)₂]⁺ solúveis.

A Figura 33 mostra a imagem de TEM das NPs obtidas que, como se pode observar neste caso e, contrariamente ao observado para o sistema celulose/ouro, não possuem núcleos monodispersos além da camada de sílica não ser uniforme. Através de uma análise pormenorizada das partículas de Ag@SiO₂, é facilmente perceptível a existência de várias nanopartículas de Ag no interior do revestimento de sílica.

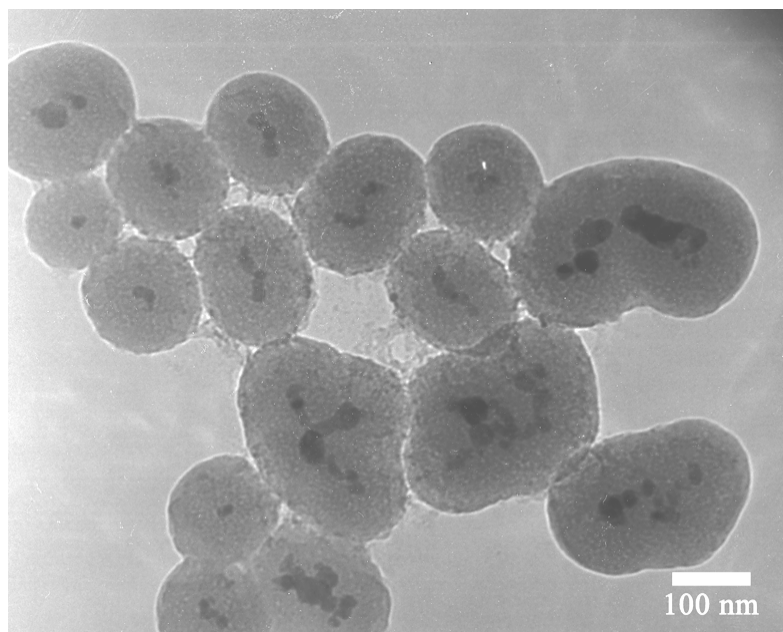


Figura 33 – Imagem de TEM das nanopartículas de Ag@SiO₂.

Este facto poderá dever-se à menor estabilidade das NPs de Ag em solução uma vez que, além do tamanho e forma, a sua estabilidade em solução também é fortemente influenciada pelo meio envolvente ^[32,33]. Isto poderá levar à agregação das NPs de Ag e consequente revestimento de agregados e não partículas individualizadas.

A caracterização da dispersão aquosa de Ag@SiO₂ permitiu verificar que, de igual modo ao verificado com as NPs de Au, quando se procede ao revestimento das NPs de Ag ocorre um ligeiro desvio do máximo de absorção para comprimentos de onda superiores (400 nm) (Figura 34).

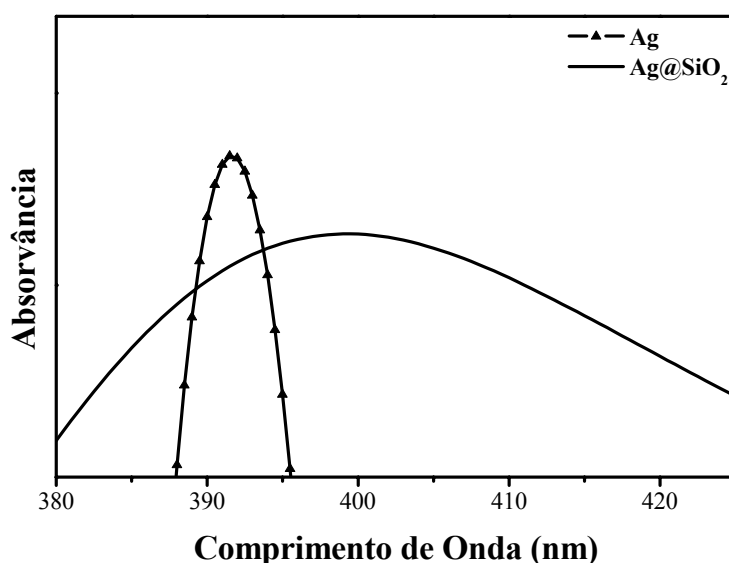


Figura 34 – Detalhe do espectro de visível das NPs de Ag e Ag@SiO₂ dispersas em água.

De acordo com a literatura ^[32, 33], o desvio no comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção é devido ao aumento do índice de refração das NPs devido à camada de sílica. Este aumento do índice de refração provoca também o aumento da absorção a menores λ e a enfraquecimento da intensidade da banda, nomeadamente das NPs que possuem espessuras mais elevadas.

Devido à não uniformidade de tamanhos das NPs de Ag@SiO₂, decidiu-se não utilizar este tipo de partículas para a posterior síntese dos nanocompósitos por LbL utilizando-se apenas as NPs de Ag sem revestimento.

2.2.2. Síntese e caracterização dos nanocompósitos celulose/Ag

2.2.2.1. Preparação através da metodologia LbL

De modo a evitar a o crescimento de partículas de elevado tamanho e a controlar a quantidade de Ag nos nanocompósitos preparados foi utilizado novamente o processo de LbL. A aplicabilidade desta metodologia, anteriormente testada para o caso dos nanocompósitos com Au, foi também utilizada mas neste caso com os dois casos de NPs de Ag sintetizadas de modo a verificar o efeito do tamanho de partícula nas propriedades finais dos nanocompósitos.

Neste caso, as NPs de Ag também se encontram carregadas negativamente ($-19,5 \pm 8,56$ mV a pH 7,24 no caso da redução pelo NaBH_4 e $-39,3 \pm 11,5$ mV a pH 6,79 no caso da redução pelo citrato).

A Figura 35 mostra as imagens dos nanocompósitos de CV/Ag obtidos para as NPs de Ag obtidas através da redução com NaBH_4 e com citrato. Observou-se que neste caso a cor final apresentada pelos nanocompósitos é praticamente idêntica à apresentada pelos colóides iniciais.

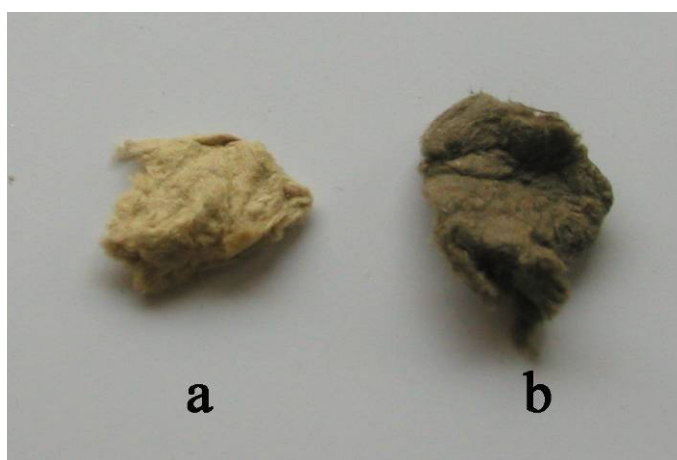


Figura 35 – Fotografia dos nanocompósitos preparados por LbL com NPs de Ag obtidas por redução com a) NaBH_4 e b) citrato de sódio.

Ambos os substratos parecem macroscopicamente homogêneos, no entanto a cor do nanocompósito sintetizado a partir de NPs de Ag preparadas através da redução com citrato parece distinta da obtida no caso da redução com NaBH_4 . Esta diferença poderá dever-se ao à diferença de tamanho das NPs de Ag utilizadas.

A Figura 36 mostra os espectros de UV-vis (K/M) dos dois nanocompósitos obtidos pelo método de LbL. Observou-se que ambos apresentam uma banda de absorção larga no visível na zona dos 400 nm, a qual é devida à ressonância de plasmão das NPs de Ag. Esta banda estende-se para maiores comprimentos de onda devido à difracção da luz devido à matriz celulósica (deslocamento também verificado nos nanocompósitos celulose/Au), no entanto, o comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção é distinto, 417 nm para a redução com NaBH_4 e 437 nm para a redução com citrato.

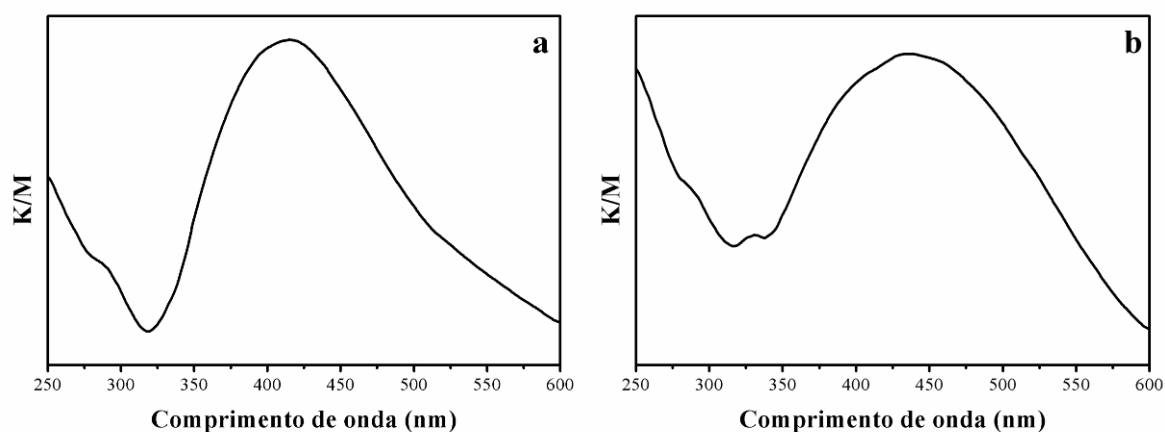


Figura 36 – Espectros de UV-vis dos nanocompósitos CV/Ag preparado por LbL com NPs de Ag obtidas por redução com a) NaBH_4 e b) citrato de sódio.

A Figura 37 mostra as imagens de SEM destes nanocompósitos. Comparando os resultados obtidos, em ambos os casos, tanto os que partiram das NPs de Ag sintetizadas pela metodologia com NaBH_4 (Figura 37 a) como com o citrato (Figura 37 b), verificou-se um revestimento perfeito da superfície das fibras de CV com NPs de Ag, no entanto, de o tamanho das NPs Ag depositadas é distinto. Apesar destas imagens mostrarem um número diminuto de partículas na superfície do filme observam-se fracções da superfície com uma quantidade de NPs de Ag superior (Figura 37 c).

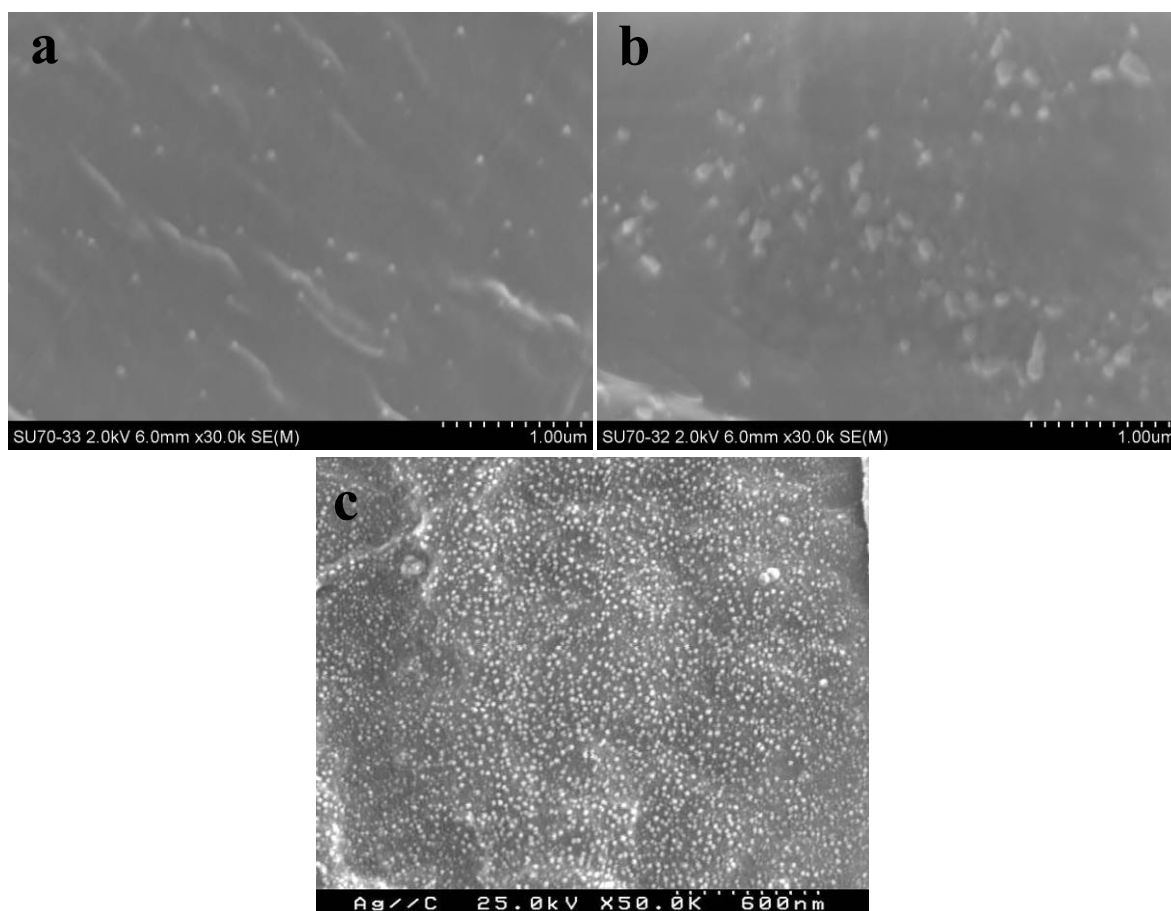


Figura 37 – Imagens de SEM dos nanocompósitos CV/Ag preparados por LbL com NPs de Ag obtidas por redução com: a) NaBH_4 , b) citrato de sódio e c) NaBH_4 .

Uma das vantagens da metodologia de LbL, além do controle da dimensão das partículas e morfologia das mesmas no nanocompósito final, é controlar a quantidade de Ag nos nanocompósitos. Verificou-se que, através do controle da concentração da solução inicial de colóides de Ag, consegue-se controlar a quantidade final de Ag nos nanocompósitos. Assim, com o aumento a concentração da solução coloidal de Ag observou-se o aumento da quantidade de Ag, tendo sido obtidas amostras distintas com quantidades de Ag variáveis analisadas posteriormente por ICP (desde 0,57 a 5×10^{-4} %m/m).

2.2.2.2. Preparação através da metodologia *in situ*

Após a realização do trabalho com o ouro foi possível observar que o substrato desempenha um efeito importante na nucleação e crescimento das NPs metálicas. Assim

pensou-se em aplicar o mesmo método de síntese *in situ* aos substratos celulósicos partindo de um sistema com um sal de Ag (I).

Esta metodologia, descrita anteriormente, originou nanocompósitos homogêneos com uma coloração idêntica à obtida por LbL tanto no caso de se partir da celulose vegetal como da bacteriana (Figura 38).

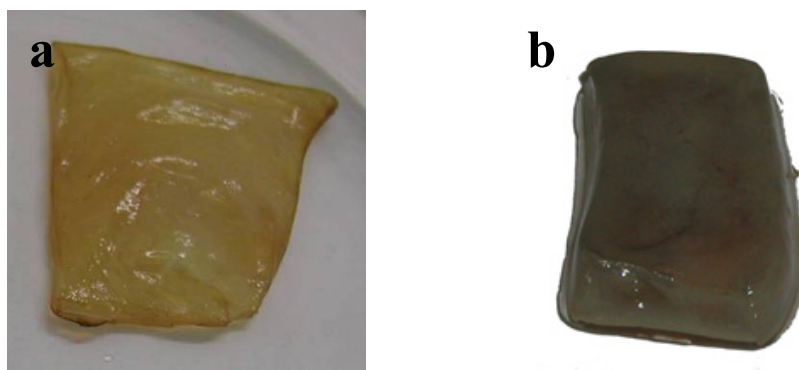


Figura 38 – Fotografia dos nanocompósitos preparados pelo método *in situ* com BC: redução na presença de a) NaBH_4 e b) citrato de sódio.

Como verificado para os nanocompósitos com Au, também neste caso as NPs permanecem fixas às fibras celulósicas apesar dos repetidos processos de lavagem a que foram submetidas. Os espectros de absorção (Figura 39) mostraram mais uma vez que as bandas de absorção se tornam mais largas em relação aos colóides originais assim como ocorre o deslocamento do máximo de absorção para comprimentos de onda superiores. É de referir que, entre a redução com NaBH_4 e com citrato, o valor do λ do máximo de absorção é ligeiramente diferente sendo para o NaBH_4 de 425 nm para o citrato de 433 nm.

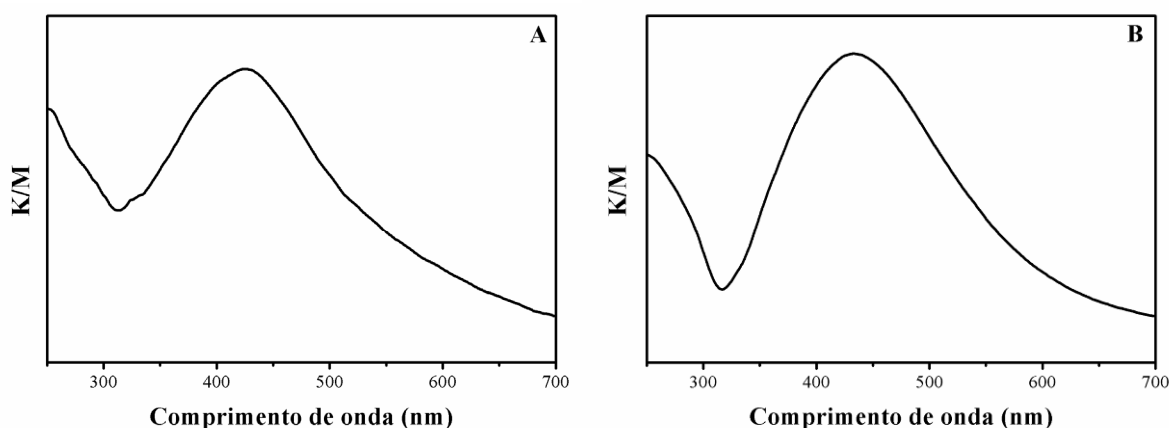


Figura 39 – Espectros de absorção dos nanocompósitos CV/Ag preparados pela metodologia *in situ*: redução por A) NaBH_4 e B) citrato de sódio.

Os espectros de absorção dos nanocompósitos com BC foram análogos aos obtidos para a CV.

A Figura 40 mostra as imagens de SEM dos vários nanocompósitos preparados. Como se observou, no caso de se partir da CV (Figura 40 a e b) obtiveram-se fibras com um filme nanoestruturado e uniforme de Ag que cobre praticamente toda a superfície das fibras independente do agente redutor utilizado (NaBH_4 ou citrato).

Utilizando-se a BC (Figura 40 c e d), dependendo da parte das fibras, é possível observar zonas com filme e NPs (áreas fibrilares mais compactadas) e zona com NPs individualizadas (áreas fibrilares mais abertas).

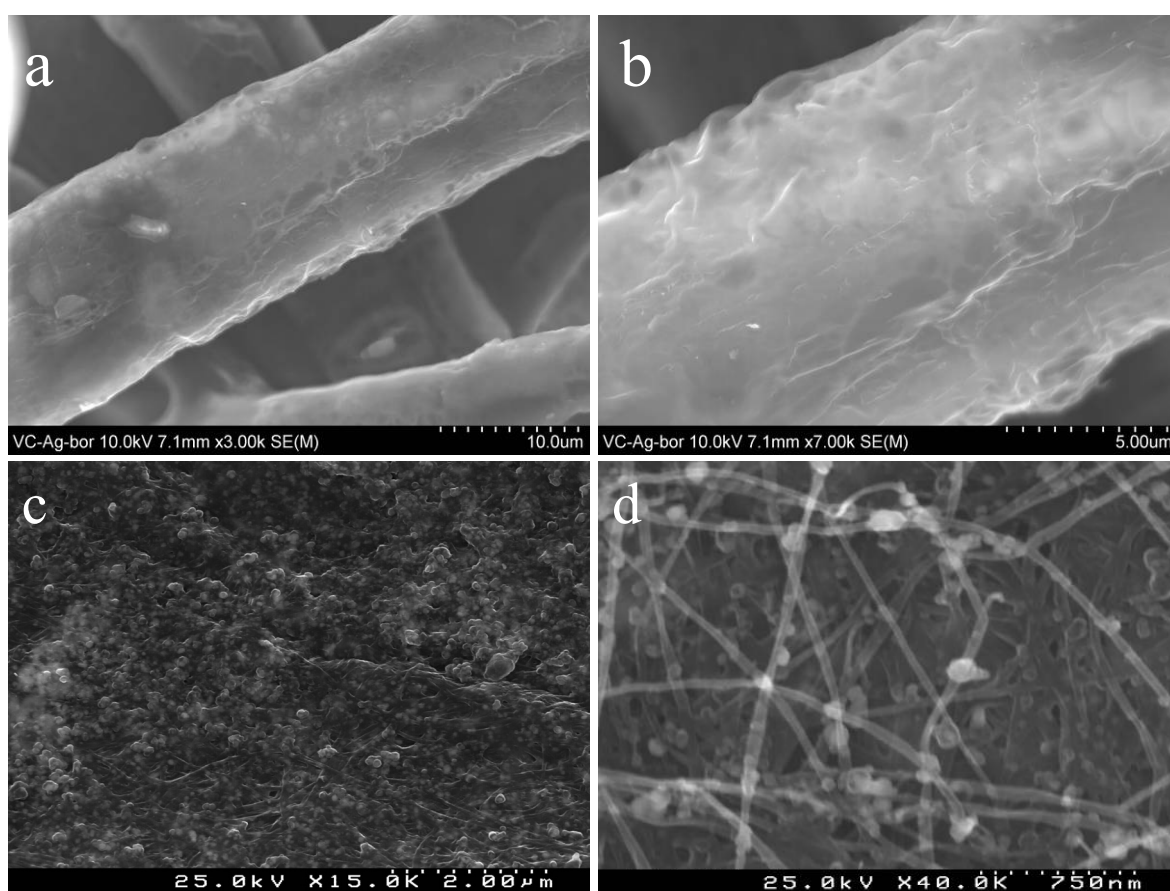


Figura 40 – Imagens de SEM dos nanocompósito CV/Ag (a e b) e BC/Ag (c e d).

A análise por AFM foi mais uma vez utilizada como técnica complementar de análise. Como se pode observar, no caso dos nanocompósitos com CV, os filmes de Ag formados são constituídos por NPs de Ag com uma distribuição mais ou menos regular (Figura 41). A Figura 42 mostra que as NPs, no caso dos nanocompósitos com BC, se

encontram distribuídas de forma relativamente organizada sobre a superfície da matriz, corroborando assim os resultados observados na análise por SEM.

Como referido, quando normalmente se recorre à metodologia *in situ*, uma das desvantagens é o facto da matriz interferir de forma não controlada na formação das NPs sendo por isso bastante difícil o controlo do seu tamanho e forma. No entanto para este caso específico pode-se ver que a distribuição e forma é relativamente regular e o tamanho mais ou menos uniforme.

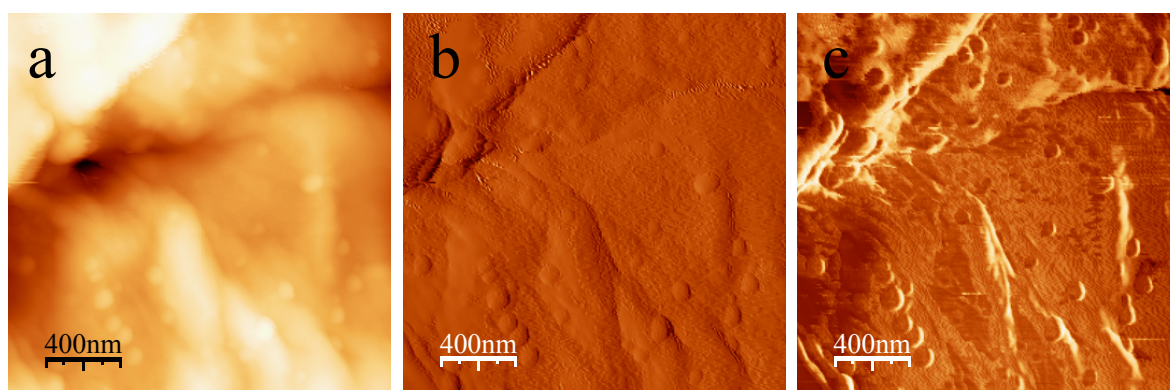


Figura 41 – Imagens de AFM dos nanocompósitos CV/Ag preparados pela metodologia *in situ*:

a) topografia, b) amplitude e c) fase.

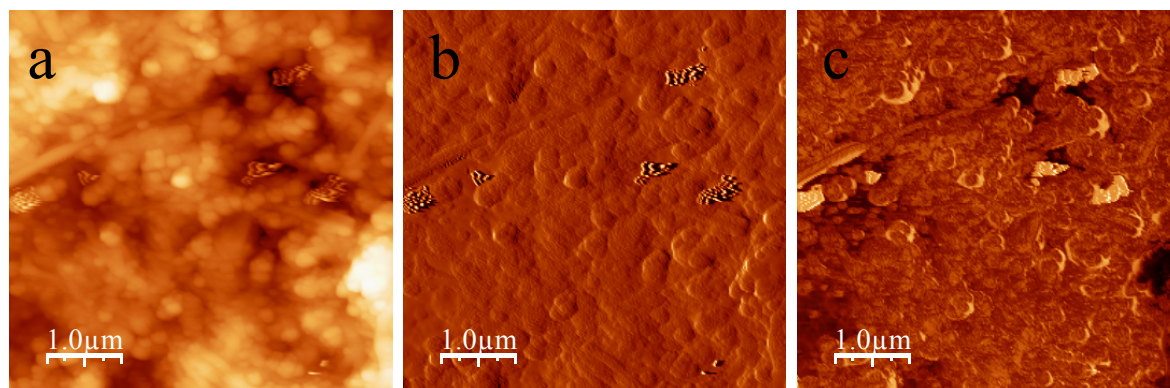


Figura 42 – Imagens de AFM dos nanocompósitos BC/Ag preparados pela metodologia *in situ*:

a) topografia, b) amplitude e c) fase.

A estrutura cristalina dos nanocompósitos foi novamente investigada por difracção de raios X. Verificou-se que, para todos os casos, está presente uma fase identificada como Ag metálica, sendo visível no difractograma as difracções de 2 θ correspondentes a esta fase. Os picos observados a 2 θ = 15 e 22,5° são devidos às fases I $_{\alpha}$ e I $_{\beta}$ presentes na

celulose bacteriana (Figura 43). Neste caso, o pico a 15° é atribuído aos planos (100_{1α}), (110_{1β}) e (010_{1β}) enquanto o pico a 22,5° é atribuído aos planos (110_{1α}) e (200_{1β}) [83].

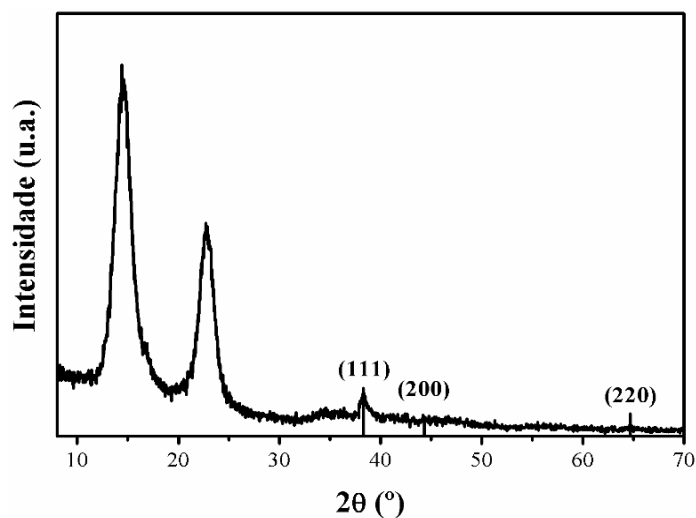


Figura 43 – Difractograma de raios X do nanocompósito BC/Ag obtido pela metodologia *in situ*.

De igual modo ao realizado na metodologia de LbL, com pequenas alterações na metodologia seguida, pode-se controlar a quantidade de Ag presente nos nanocompósitos finais. Neste caso, através do aumento da concentração inicial de AgNO₃ consegue-se o aumento da quantidade de Ag, no entanto, devido ao método usado, esse controle não é totalmente preciso. Para o caso dos nanocompósitos com CV obtiveram-se amostras com quantidades de Ag entre $8,5 \times 10^{-2}$ a $6,2 \times 10^{-4}$ (%m/m) enquanto para a BC entre $4,4$ e $7,4 \times 10^{-3}$ (%m/m).

2.2.3. Possíveis Aplicações

2.2.3.1. Nanocompósitos celulose/Ag como substratos para SERS

Uma possível aplicação deste tipo de materiais nanoestruturados é a sua utilização para SERS (difusão de Raman intensificada por superfície). O SERS refere-se à observação de que, para certas moléculas adsorvidas em superfícies metálicas especialmente preparadas, se obtém um espectro Raman no qual a intensidade é reforçada por um factor de até 10^6 [8].

Este efeito é conhecido desde os estudos de Jeanmaire e Van Duyne [84] e Albrecht e Creighton [85] de adsorção de piridina em substratos de prata. Este método espectroscópico difere de outro tipo de técnicas devido aos fenómenos físico-químicos relevantes ocorrerem na superfície de uma fase sólida quando esta interage com determinadas moléculas específicas, sendo de salientar que é aplicado normalmente a amostras bastante diluídas [8].

A intensificação de sinal de Raman em SERS é obtida através da conjugação de um efeito electromagnético e de interações químicas entre as moléculas adsorvidas e o substrato. A natureza da intensificação de sinal tem sido estudada exaustivamente mas aspectos como a contribuição relativa de ambos os efeitos ainda não está totalmente compreendida [8].

Esta técnica foi desenvolvida no âmbito de estudos de espectroscopia de Raman sendo que a maioria dos trabalhos publicados sobre este efeito envolve colóides de ouro ou prata, ou eléctrodos desses metais superficialmente rugosos [8,16-21,33,84-86].

O forte aumento de sinais de Raman torna geralmente esta técnica interessante para a detecção de amostras muito diluídas ou desconhecidas ou baixos níveis de contaminantes apesar de ser considerada apenas como uma técnica qualitativa e não quantitativa [8].

A utilização dos nanocompósitos de celulose/Ag aqui preparados representou o primeiro trabalho onde se faz referência à utilização deste tipo de substratos para análise em SERS. Isto poderá levar ao desenvolvimento de novos substratos activos baseados na utilização de polímeros obtidos a partir de fontes renováveis.

Foram escolhidos como analitos a 2,2'-ditiodipiridina (2dtpy) e o ácido tiosalicílico (SHsal) porque apresentam uma forte amplificação de sinal de Raman quando se utiliza colóides de Ag convencionais (Figura 44) ^[21]. Além disso, os modos de adsorção destes ligandos com a superfície da prata são diferentes, o que permitiu comparar os diferentes nanocompósitos com ligandos que apresentam distintos comportamentos de adsorção química ^[31].

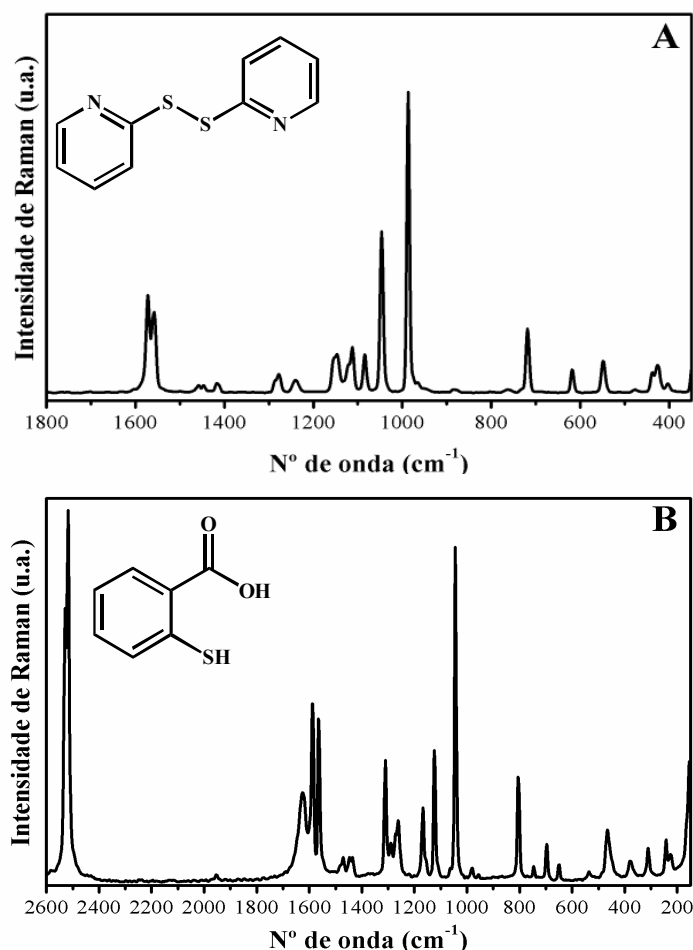


Figura 44 – Espectros de Raman da 2dtpy (A) e do SHsal (B).

A Figura 45 mostra os espectros de SERS registrados para a 2dtpy e para o SHsal usando os dois nanocompósitos preparados pela metodologia *in situ*. Os colóides de Ag foram também utilizados para comparação pois é o substrato mais utilizado em SERS.

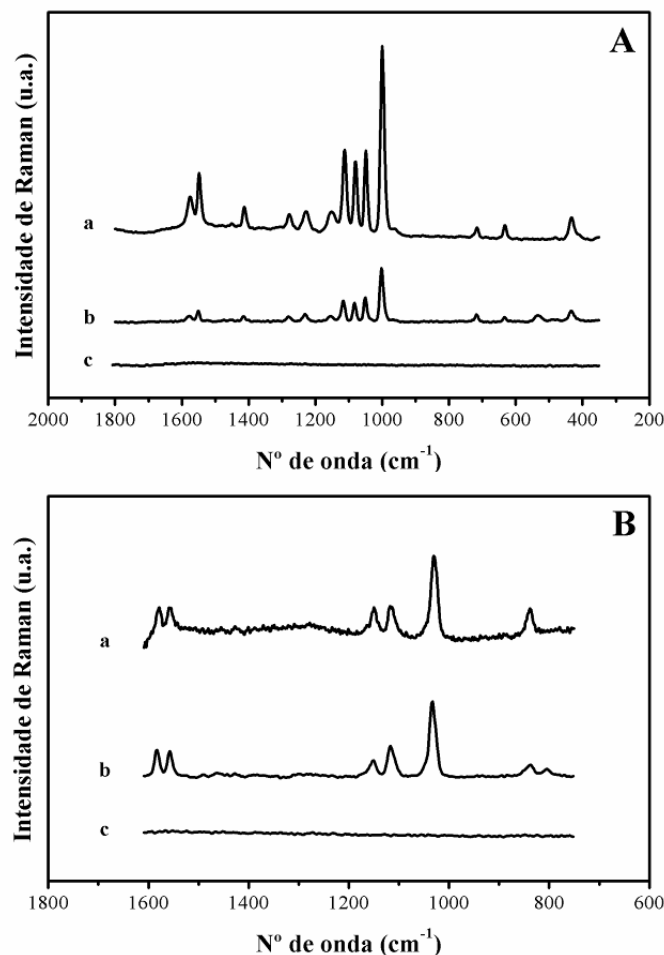


Figura 45 – Espectros de SERS da 2dtpy (10^{-4} M) (A) e do SHsal (10^{-4} M) (B) em diferentes substratos com Ag: a) BC/Ag, b) colóide de Ag e c) CV/Ag.

Os resultados obtidos, tanto para o 2dtpy como para o SHsal, mostram que o compósito BC/Ag dá origem a um sinal de SERS (Figura 45 (a)) enquanto o nanocompósito análogo com celulose vegetal (Figura 45 (c)) não apresenta qualquer intensificação de sinal.

É de destacar que a intensidade do sinal observado para a 2dtpy adsorvida no nanocompósito BC/Ag foi também mais forte do que o observado no colóide de Ag (Figura 45 A).

A intensificação dos sinais é observada nomeadamente na região de 1000-1160 cm^{-1} atribuída aos modos vibracionais no plano do anel aromático, nomeadamente a flexão $\delta(\text{C-H})$ a 1050 cm^{-1} e o modo de deformação do anel $\delta(\text{CCC})$ a 1002, 1084 e 1189 cm^{-1} . A presença no espectro de SERS dos modos vibracionais no plano e fora do plano tem sido associada à adsorção das moléculas com uma posição inclinada dos anéis aromáticos em relação ao substrato (Figura 46) ^[18].

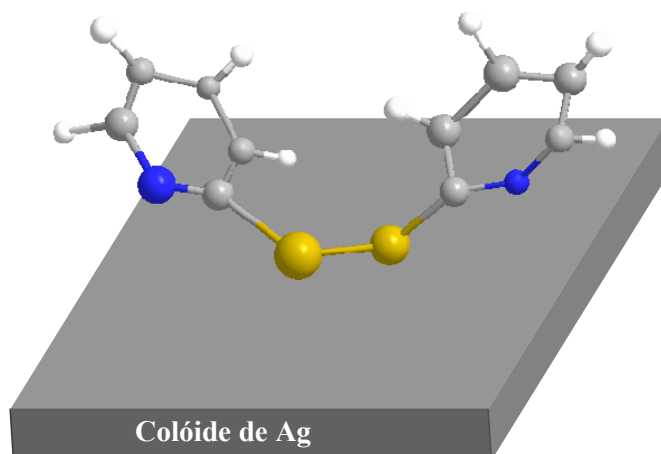


Figura 46 – Representação esquemática da adsorção de uma molécula de 2-dtpy em Ag.

Foi observado um forte sinal de SERS também para o SHsal adsorvido no nanocompósito BC/Ag (Figura 45 B). No entanto, neste caso a intensidade do sinal é semelhante à obtida para o colóide.

Através da observação da Figura 47 pode-se ver o reforço selectivo de algumas bandas sendo de salientar a ausência, nos espectros de SERS, da elongação C=O ($\nu_{\text{C=O}}$) a 1652 cm^{-1} o que sugere que estas moléculas adsorvem através do ião carboxilato (COO^-) após dissociação do ácido conforme descrito também na bibliografia no caso dos colóides ^[20]. Alguns autores ^[21] defendem que esta molécula também se pode ligar pelo grupo enxofre resultante da ruptura da ligação S-H. Apesar da análise dos espectros obtidos para o colóide e de nanocompósito não se conseguir observar claramente o aparecimento da banda Ag-S ($\nu(\text{Ag-S})$) a 247 cm^{-1} é possível observar nitidamente o desaparecimento da banda do S-H a 2518 cm^{-1} o que confirma esta análise.

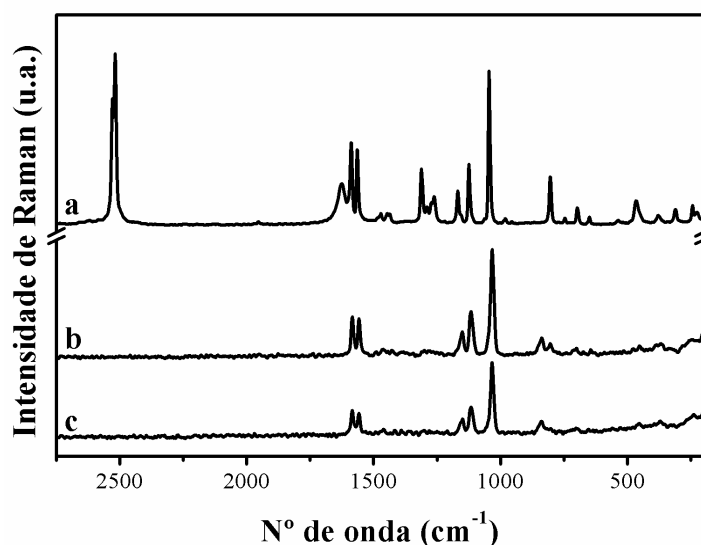


Figura 47 – Espectro de Raman do a) SHsal e espectros de SERS do SHsal em diferentes substratos: b) coloide de Ag e c) BC/Ag.

Comparando os resultados obtidos é evidente que os nanocompósitos preparados com celulose bacteriana são os únicos que apresentam maior sensibilidade na detecção dos analítos. No entanto, tornou-se evidente a partir da análise de SEM (Figura 48), que estes têm características microestruturais bastante distintas. Assim sendo, uma explicação para a diferença observada na diferente sensibilidade destes dois substratos celulósicos poderá residir na organização microfibrilar da celulose bacteriana e no modo em como esta influencia o crescimento *in situ* das nanopartículas de Ag.

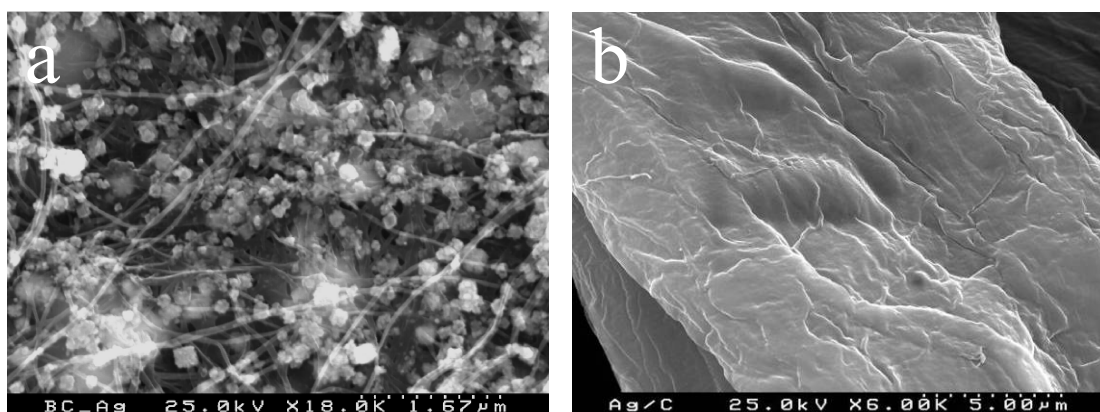


Figura 48 – Imagens de SEM dos nanocompósitos a) BC/Ag e b) CV/Ag.

De facto, como se pode observar na imagem Figura 48 (a), os nanocompósitos formados a partir da celulose bacteriana apresentam uma estrutura microfibrilar tridimensional composta por nano-filamentos interligados com NPs discretas de Ag na superfície e com um certo grau de aglomeração entre si. Em contraste, o nanocompósito CV/Ag apresenta fibras bem mais largas completamente revestidas por um denso filme de Ag (Figura 48 (b)) onde não se verifica a presença de aglomerados de partículas de Ag.

Segundo a literatura ^[2], a intensificação e sinal de Raman não se verifica, ou é praticamente inexistente, para NPs metálicas isoladas apenas se observando quando se induz a sua agregação. Assim, a matriz BC/Ag proporciona uma maior área interfacial para a deposição e agregação das NPs de Ag (quando comparada com a CV) onde as moléculas do ligando podem adsorver dando origem ao aumento do sinal de Raman.

Com o objectivo de avaliar os limites de detecção de SERS para o nanocompósito BC/Ag realizou-se um estudo utilizando soluções de 2dtpy e SHsal com concentrações sucessivamente mais diluídas: 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} M. Em ambos os casos, uma concentração do analito de 10^{-4} M foi visto ser o menor valor para o qual se observou sinal de SERS (Figura 49).

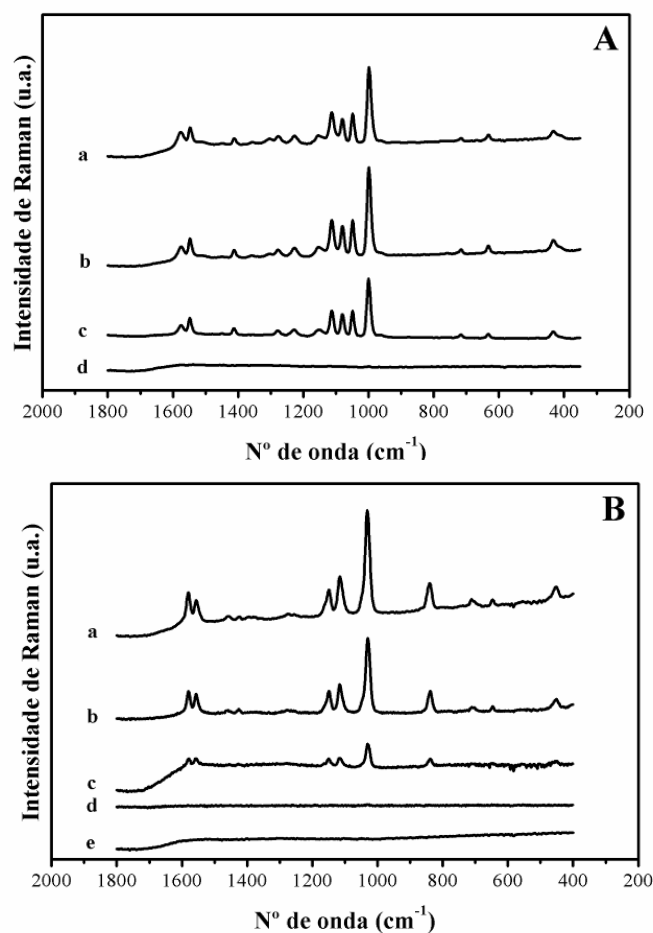


Figura 49 – Espectro de SERS dos analitos (A) 2dtpy e (B) SHsal adsorvidos no nanocompósito BC/Ag em concentrações decrescentes: a) 10^{-2} ; b) 10^{-3} ; c) 10^{-4} d) 10^{-5} M e e) sem analito presente.

Apesar de se tratar de um limite de detecção baixo, considerando-se o uso de um substrato sólido, este limite é ainda superior ao valor obtido para o colóide de Ag (Figura 50), que foi de 10^{-6} M para a 2dtpy e 10^{-5} M para o SHsal, para as mesmas condições instrumentais (potência do laser de 170 mW). No entanto, é de salientar que a utilização deste substrato sólido proporciona um manejo bastante mais rápido e prático de análise de SERS.

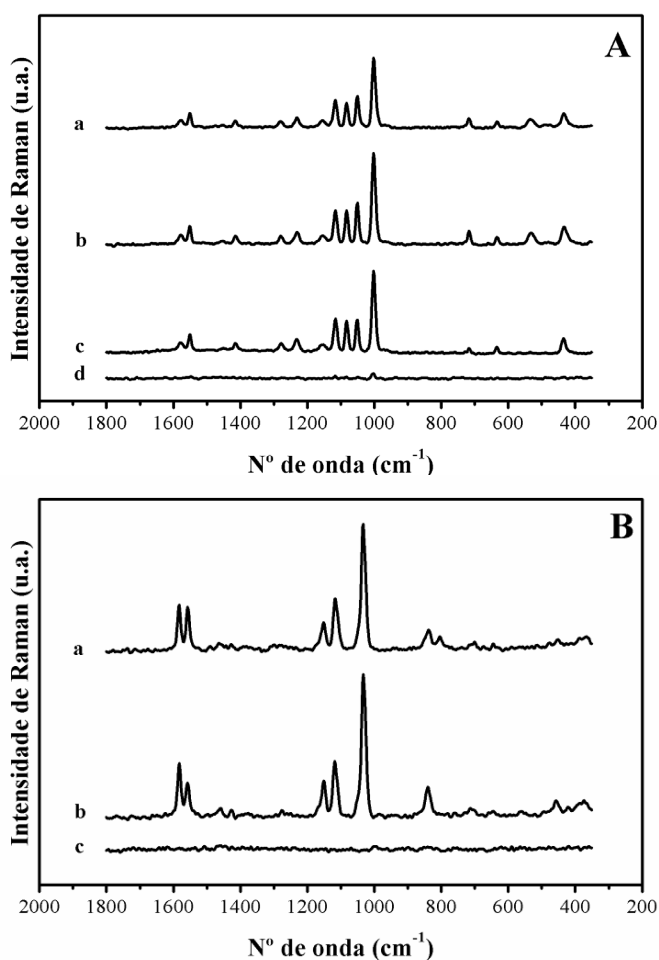


Figura 50 – Espectro de SERS dos analitos (A) 2dtpy e (B) SHsal adsorvidos no colóide de Ag em concentrações decrescentes: a) 10^{-4} ; b) 10^{-5} ; c) 10^{-6} e d) 10^{-7} M.

Outro aspecto importante em análises deste tipo é saber a reprodutibilidade e estabilidade deste tipo de medições ao longo do tempo. Para isso registrou-se o espectro de Raman, para o mesmo nanocompósito, com um dos analitos (SHsal) ao longo do tempo (Figura 51). Como se pode observar ocorre a diminuição da intensidade das bandas ao longo do tempo. Apesar disso é de salientar que mesmo após 2 horas, as bandas continuam visíveis o que nos indica, de uma maneira qualitativa, a estabilidade deste tipo de substratos para este tipo de análise.

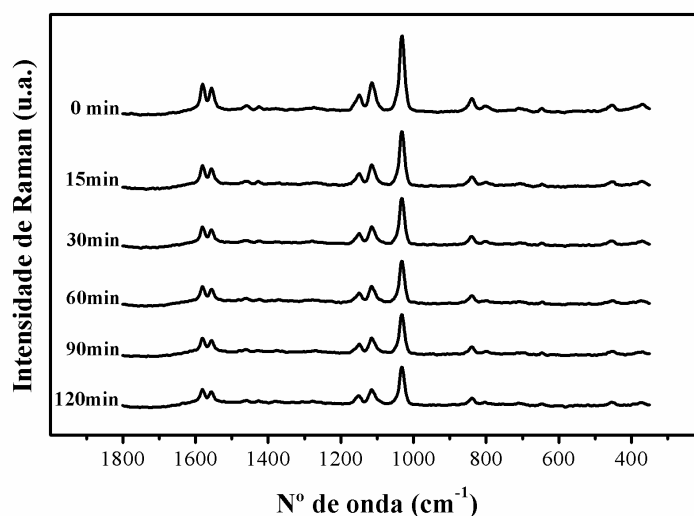


Figura 51 – Espectros de SERS do SHsal (10^{-3} M) no nanocompósito BC/Ag ao longo do tempo.

O método de SERS também tem sido aplicado com sucesso ao estudo de biomoléculas adsorvidas na superfície de metais, como por exemplo a prata ^[16,17].

Sendo a celulose bacteriana um material biocompatível com interessantes e numerosas aplicações no plano dos produtos farmacêuticos ou dos cuidados médicos pensou-se que a utilização destes nanocompósitos poderia ser relevante também na detecção de bioanalitos. O alargamento da aplicabilidade deste biopolímero ao campo do diagnóstico clínico teria como grande vantagem a simplicidade de preparação destes materiais e a facilidade de manuseamento na análise.

Na tentativa de avaliar o potencial dos nanocompósitos BC/Ag na detecção de biomoléculas por SERS, foram realizados alguns ensaios utilizando diversas soluções aquosas de alguns aminoácidos.

A Figura 52 mostra os espectros de SERS da L-fenilalanina, L-glutamina e L-histidina adsorvidos no nanocompósito de BC/Ag, juntamente com os espectros de Raman das amostras sólidas.

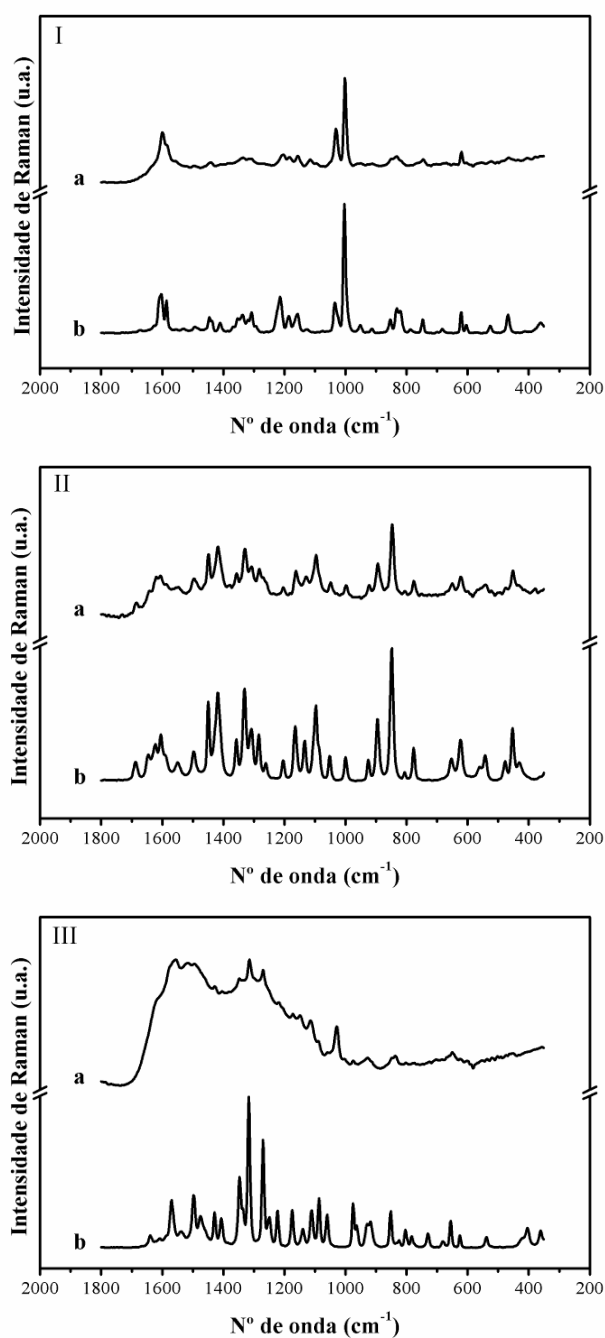


Figura 52 – Espectros de SERS usando os a) nanocompósitos BC/Ag como substrato e b) Raman convencional da: I) L-fenilalanina, II) L-glutamina e III) L-histidina.

Os espectros obtidos para a L-fenilalanina e L-glutamina foram de boa qualidade uma vez que mostraram um aumento selectivo de algumas das bandas, quando comparado com os sólidos. Também se conseguiu obter o espectro de SERS para a L-histidina embora com bandas de menor intensidade.

No espectro de SERS da L-fenilalanina, as fortes bandas a 1000 e 1020 cm^{-1} podem ser atribuídas ao modo de deformação do anel $\delta(\text{CCC})$ e à flexão no plano $\delta(\text{C-H})$, respectivamente, sugerindo uma adsorção perpendicular do anel aromático ^[19]. Segundo a literatura ^[86], ainda não foi detectada a L-fenilalanina numa solução coloidal de prata, mas um espectro foi obtido quando a L-fenilalanina foi adsorvida em partículas de Ag depositadas em papel de filtro. Neste trabalho foi obtido um sinal muito mais forte utilizando os nanocompósitos de BC/Ag como substrato, para este analito.

Este foi sem dúvida uma primeira tentativa de avaliar o potencial deste tipo de nanocompósitos com Ag, sintetizados por este método, na detecção tanto de moléculas orgânicas como biomoléculas sendo por isso um campo ainda com muito potencialidades, uma vez que outro tipo de moléculas poderão ser estudadas assim como novas metodologias aplicadas de modo a, por exemplo, diminuir os limites de detecção.

Este tipo de substratos demonstrou também a possível aplicação como materiais de análise descartáveis sendo que a sua aplicação como “papel de identificação” de diversos tipos de moléculas orgânicas é uma hipótese a testar.

2.2.3.2. Nanocompósitos celulose/Ag como agentes antimicrobiano

Outra aplicação deste tipo de materiais é a sua utilização como agentes antimicrobianos. É do conhecimento geral que a prata, tanto na sua forma metálica como iónica, exibe forte citotoxicidade contra uma ampla gama de microrganismos.

Compósitos com prata, adaptados para uma lenta taxa de libertação de Ag, estão actualmente a ser investigados para diversas aplicações devido ao recente aumento de novas estirpes de bactérias resistentes aos antibióticos mais potentes ^[67,87]. Outra razão para o desenvolvimento destes materiais antimicrobianos mais seguros e baratos é o facto de alguns dos antibióticos comerciais serem extremamente tóxicos e irritantes para o ser humano ^[88].

A actividade antibacteriana destes materiais está a ser estudada utilizando diversos tipos de bactérias nomeadamente *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* de modo a verificar a importância da metodologia usada assim como da quantidade final de Ag presente na sua actividade final. Resultados preliminares mostraram que a presença de prata nestes nanocompósitos levou a que estes se convertessem em

materiais eficazes contra as bactérias, mesmo em concentrações muito baixas de prata (5×10^{-4} (% m/m)) conseguindo-se taxas de mortalidade na ordem dos 100% em 24 horas.

Pre vemos que a utilização destes nanocompósitos versáteis baseados em celulose, tanto na sua forma corrente como posteriormente incorporados em matrizes poliméricas, poderá dar origem a estratégias promissora para produzir uma ampla gama de matérias interessantes onde as propriedades antimicrobianas são cruciais.

Capítulo 3

3. CONCLUSÕES

Neste trabalho apresentou-se pela primeira vez a utilização de diferentes tipos de fibras celulósicas, vegetais e bacterianas, como substratos para a preparação de nanocompósitos com nanopartículas de Au e Ag. Foi demonstrado que este tipo de NPs podem ser depositadas em diferentes tipos de substratos celulósicos utilizando dois métodos distintos: preparação *in situ* e deposição camada a camada.

Este trabalho demonstrou que as propriedades ópticas finais dos nanocompósitos podem ser ajustados modificando a superfície das NPs com sílica. Além disso mostrou-se que a morfologia superficial desses mesmos nanocompósitos também difere no caso ou não das NPs se encontrarem revestidas. A utilização da síntese *in situ* em presença das fibras permitiu concluir que as propriedades dos materiais preparados também dependem da metodologia seguida uma vez que neste caso a superfície e estrutura do substrato celulósico utilizado desempenham um papel importante.

Esta variedade de possibilidades de produzir nanocompósitos com características ópticas específicas em fibras celulósicas torna este trabalho muito interessante nomeadamente para aplicação em papéis especiais (nomeadamente para segurança) e têxteis (nomeadamente como pigmentos para alta-costura).

No caso específico dos nanocompósitos de celulose/prata sintetizados pela metodologia *in situ*, mostrou-se que estes podem ser utilizados como novos substratos activos na detecção de vários tipos de moléculas usando a espectroscopia Raman. Comparado ambos os substratos, com celulose vegetal e bacteriana, os nanocompósitos com BC foram muito mais sensíveis à análise de SERS das amostras testadas neste trabalho, das quais se destacam soluções aquosas de alguns aminoácidos.

Os nanocompósitos aqui descritos oferecem assim uma metodologia realista e prática, muito mais simples da existente actualmente, para a análise tanto de moléculas orgânicas como biomoléculas. Futuros trabalhos de investigação deverão abordar estratégias de modo a reduzir os limites de detecção.

A funcionalidade destes nanocompósitos como materiais antimicrobiais na forma corrente é de salientar. Posteriormente, a possibilidade de incorporação em matrizes poliméricas abre boas perspectivas a nível da sua aplicabilidade como materiais de embalagem antimicrobiais.

A utilização de NPs depositadas em substratos renováveis e amplamente disponíveis é um campo quase ilimitado de desenvolvimento de novos materiais. A diversidade de NPs, e consequente diversidade de propriedades físico-químicas, aliado à multiplicidade de estruturas naturais existentes faz com que estes resultados abram novas perspectivas para o desenvolvimento de uma nova classe de materiais com base em polímeros renováveis e biocompatíveis.

A utilização em sensores, catálise, aparelhos electrónicos, membranas selectivas e materiais de liberação controlada de medicamentos, entre outras, não é apenas uma perspectiva futura mas uma realidade presente.

Capítulo 4

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e reagentes

As fibras de celulose vegetal (*Eucalyptus globulus*), pasta kraft branqueada EFC, (comprimento médio de 0,9 mm e largura média de 20 μ m) compostas essencialmente por celulose (~85%) e glucuronoxilanas (~15%) foram fornecidas pela Portucel (Portugal) sendo estas desintegradas e lavadas com água destilada antes da sua utilização. Para cada síntese foi utilizada uma consistência de 1% (1g de celulose/ 100 mL água).

A celulose bacteriana pura formada pela *Acetobacter xylinus* foi recebida na forma de uma rede tridimensional molhada (estruturas nanofibrilares com 50-100 nm de largura). Para as sínteses realizadas com celulose bacteriana foram utilizadas amostras com 2x2 cm. No final das sínteses as amostras foram liofilizadas.

Os solventes e reagentes químicos utilizados no decorrer deste trabalho foram adquiridos a várias empresas e foram usados sem nenhuma purificação prévia.

Solventes

Etanol	Riedel-de Haën , p.a.
--------	-----------------------

Reagentes

Borohidreto de sódio	Riedel-de Haën, 95%
Citrato de sódio	BDH, 99 %
Cloreto de magnésio (II) hexahidratado	Riedel-de Haën, p.a.
Cloreto de sódio	Merck, p.a.
Dimetilamina	Merck, 40%
Hidrogenotetracloro de ouro (III) trihidratado	Aldrich, 99,9%
Hidróxido de sódio	Pronolab, p.a.
Nitrato de prata (I)	Aldrich, 99, 999%
Poli(cloreto de dialildimetilamónio) (PDDA)	Aldrich, 20 wt.% (MW 100 000 – 200 000)
Poli(4-estireno sulfonato de sódio) (PSS)	Aldrich, p.a. (MW 70,000)
Polivinilpirrolidona (PVP)	Sigma-Aldrich, p.a. (MW 55 000)
Solução de amoníaco	Merck, 25%
Tetraetilortosilicato (TEOS)	Aldrich, 98%

Analitos testados em SERS

Ácido tiosalicílico (SHsal)	Aldrich, 97%
2,2'-ditiodipiridina (2dtpy)	Aldrich, 98%
L-fenilalanina	Fluka, 99%
L-glutamina	Merck, 99%
L-histidina	Merck, 99%

4.2. Sínteses químicas

4.2.1. Síntese das nanopartículas de Au e de Au@SiO₂

As nanopartículas de Au foram preparadas por redução de um complexo de Au (III), [AuCl₄]⁻, com citrato de sódio seguindo o procedimento descrito na literatura ^[33]. Tipicamente, 1,88 mL de uma solução aquosa de citrato de sódio (0,085M) foi adicionada a 100 mL de uma solução aquosa de HAuCl₄.3H₂O (0,24 mM) a 80 °C e sob agitação. Seguindo este procedimento obtém-se uma solução coloidal avermelhada estável durante longos períodos, tanto em água como em etanol.

As NPs de Au foram revestidas com uma camada uniforme de sílica, através de uma adaptação do método descrito por Xia et al. ^[39] podendo esta ter diferente espessura. Em 20 mL de etanol são colocados 4 mL da solução de NPs de Au e, sob agitação vigorosa, é adicionado 0,5 mL de amónia. Seguidamente adiciona-se o TEOS (0,001-0,01 M dependendo da espessura da camada de sílica pretendida). A mistura reaccional é deixada em agitação durante mais 1 h à temperatura ambiente. As NPs foram então isoladas e dispersas por centrifugação de modo a remover possíveis reagentes iniciais que não tenham reagido.

4.2.2. Síntese dos nanocompósitos celulose/Au e celulose/Au@SiO₂

4.2.2.1. Preparação através da metodologia LbL

A síntese dos nanocompósitos por LbL baseou-se num método descrito na literatura ^[31]. Foram preparadas soluções aquosas de PDDA e PSS a 1% (wt/v) em NaCl (0,5 M). Num primeiro passo, as fibras de celulose vegetal foram imersas na solução de PDDA e deixadas em agitação durante aproximadamente 10 min. Após esse período, as fibras foram filtradas e lavadas com água desionizada de modo a remover o excesso de polielectrólito. Seguidamente as fibras foram imersas na solução de PSS e novamente na solução de PDDA, repetindo-se o procedimento seguido no primeiro passo (imersão e lavagem). Após este passo seguiu-se a imersão das fibras modificadas na solução coloidal de NPs de Au preparadas anteriormente (10 min). A adsorção por camada foi realizada de modo idêntico para as NPs sem revestimento como para as revestidas.

4.2.2.2. Preparação através da metodologia *in situ*

A síntese dos nanocompósitos através desta metodologia consistiu basicamente na síntese das NPs de Au (ponto 4.2.1.) na presença das fibras celulósicas (vegetal e bacteriana).

Após a preparação dos nanocompósitos estes foram lavados várias vezes com água destilada. Os nanocompósitos com celulose vegetal foram posteriormente secos numa estufa a 110 °C durante toda a noite enquanto os nanocompósitos com celulose bacteriana foram liofilizados.

4.2.2.3. Preparação através de difusão

Esta metodologia, ao contrário da *in situ*, consistiu na adição das fibras celulósicas à mistura reaccional depois da redução do sal de ouro, ou seja, após as NPs de Au já estarem preparadas. As fibras foram deixadas imersas na solução de NPs de Au durante 24 h após as quais foram lavadas repetidamente.

4.2.3. Síntese das nanopartículas de Ag e Ag@SiO₂

4.2.3.1. Síntese pelo método de Creighton

Nanopartículas de prata foram preparadas por redução directa do AgNO₃ com excesso de NaBH₄ [89]. A 240 mL de uma solução NaBH₄ 2 mM em banho de gelo e sob agitação vigorosa foi adicionada, gota a gota, 80 mL de uma solução de AgNO₃ 1 mM. Após alguns minutos a solução fica com um tom amarelado, deixando-se durante mais 2 h em agitação.

4.2.3.2. Síntese pelo método de Lee-Meisel

A síntese das nanopartículas de Ag por este método foi realizada por redução do AgNO₃ com citrato de sódio [90]. Colocou-se 50 mL de uma solução de AgNO₃ 1 mM em ebulição durante 10 min. Após esse período adicionou-se 1 cm³ de uma solução de citrato de sódio 1% (w/v) à solução de AgNO₃, sob agitação vigorosa, deixando-se a mistura em

refluxo durante 45 min. Depois desse período deixou-se arrefecer lentamente a solução até à temperatura ambiente.

4.2.3.3. Preparação das nanopartículas de Ag@SiO₂

O revestimento das NPs de Ag foi feito recorrendo a uma técnica baseada na metodologia sol-gel ^[32]. A uma solução de NPs de Ag (0,018 mM) adicionou-se 63 mL de uma solução de TEOS 2 mM em etanol. Deixou-se cerca de 30 segundos a mistura em agitação e injectou-se rapidamente 9,10 mL da solução aquosa de dimetilamina 0,8 M. A mistura reaccional continuou em agitação durante mais 24 h à temperatura ambiente sendo depois as NPs isoladas e dispersas por centrifugação de modo a remover possíveis reagentes iniciais que não tenham reagido.

4.2.4. Síntese dos nanocompósitos celulose/Ag

4.2.4.1. Preparação através da metodologia LbL

A síntese preparação dos nanocompósitos por esta metodologia foi realizada segundo a preparação descrita para os nanocompósitos celulose/Au e celulose/Au@SiO₂ (ponto 4.2.2.1.). As partículas de Ag foram previamente sintetizadas segundo os dois métodos atrás descritos (Creighton e Lee-Meisel).

4.2.4.2. Preparação através da metodologia *in situ*

As sínteses *in situ* foram realizadas seguindo as condições descritas nos pontos 4.3.2.1. e 4.3.2.2. mas na presença das fibras celulósicas (vegetais e bacterianas). Após a preparação dos nanocompósitos estes foram lavados diversas vezes com água destilada. Os nanocompósitos com celulose vegetal foram secos numa estufa a 110 °C durante toda a noite enquanto os nanocompósitos com celulose bacteriana foram liofilizados.

4.3. *Análise dos nanocompósitos de celulose/prata em SERS*

A análise dos nanocompósitos de celulose prata foi realizada de acordo com o método descrito por Nogueira et al. ^[18]. Foram preparadas soluções em etanol dos dois analitos, 2dtpy e SHsal, com diferentes concentrações (entre 10^{-1} e 10^{-7} M). As soluções dos aminoácidos foram preparadas em meio aquoso com concentração de 10^{-1} M sendo o pH das soluções ajustado para 10 através da adição de algumas gotas de NaOH 0,5 M.

Quando se testou os nanocompósitos celulose/Ag, as amostras foram preparadas por simples deposição de uma gota do analito na superfície do substrato. No caso do nanocompósito com fibras de celulose vegetal foi necessário proceder-se à sua prensagem prensar de modo a preparar uma superfície lisa e uniforme. A solução foi rapidamente adsorvida em poucos segundos sendo os espectros de Raman registrados directamente.

No caso dos colóides de Ag, as soluções a analisar foram transferidas através de uma micropipeta para o colóide (10 μ L em 1 mL do colóide). O adsorbato pode induzir a agregação do colóide (mudança da cor para verde escuro). Nos casos em que a mudança de cor não foi observada foi promovida a agregação do colóide pela adição de uma gota de uma solução aquosa de $MgCl_2$ 2 M e seguidamente adicionou-se polivinilpirrolidona (2% w/v) para estabilização do mesmo. A mistura coloidal foi colocada num tubo de vidro e o espectro de Raman registrado.

4.4. *Caracterização instrumental*

- **Difracção de raios X (XRD)** – A difracção de raios X foi efectuada usando um difractómetro Philips X'Pert operando com radiação Cu- K_{α} ($\lambda=1.54178\text{\AA}$) a 40kV/50mA. As amostras dos nanocompósitos foram prensadas e seguidamente depositadas num substrato de Si antes de analisadas.
- **Espectroscopia de correlação fotónica (DLS)** – A análise do tamanho de partículas e medição do potencial Zeta das soluções foi efectuada usando um ZetaSizer Nano ZS (green badge) modelo Zen3500 da Malvern.

- **Espectrometria de plasma (ICP)** – A espectrometria de plasma acoplado indutivamente foi realizada através de um Jobin Yvon 70 Plus. A “digestão” das amostras foi feita através de uma solução de HCl/HNO₃/HClO₄.
- **Espectroscopia de UV-Vis** – Os espectros de absorção de UV-Vis das amostras líquidas foram registados usando um espectrofotómetro Jasco V-560 UV/VIS (190-900 nm), usando cuvetes de quartzo e o respectivo solvente como referência. Os espectros de absorção das amostras sólidas foram recolhidos usando o mesmo equipamento no modo de reflectância difusa e usando MgO como referência.
- **Espectroscopia vibracional (Raman)** – Os espectros de Raman foram registados após 150 scans (500 scans para os aminoácidos) usando um espectrofotómetro FT-Raman Bruker RFS100/S (laser Nd:YAG, excitação de 1064 nm) a 170 mW de potência.
- **Microscopia electrónica de varrimento (SEM)** – A microscopia electrónica de varrimento foi realizada usando um microscópio FEG–SEM Hitachi S4100 operando a 25 kV ou um microscópio de baixa voltagem FE-SEM Hitachi SU70-47 operando a 2kV. A preparação das amostras consistiu em colar os filmes com cola de carbono, num substrato de alumínio. As amostras foram previamente “depositadas” com carbono (usando um evaporador de carbono).
- **Microscopia electrónica de transmissão (TEM)** – A microscopia electrónica de transmissão e a análise por EDS, das nanopartículas, foram realizadas num microscópio Hitachi H-9000 operando a 300 kV. A preparação das amostras consistiu em colocar uma alíquota da amostra sobre uma grelha de cobre revestida com filme de carbono amorfo, deixando o solvente evaporar antes da análise.
- **Microscopia de força atómica (AFM)** – Foi utilizado um microscópio MultiMode Scanning Probe com um controlador NanoScope IIIA no modo de contacto (tapping mode).
- **Liofilização** – A liofilização dos nanocompósitos com BC foi realizada num liofilizador Virtis Sentry a temperatura constante de –50 °C, sendo estes previamente congelados.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Vincenzo B. Nanoscience and Nanotechnology: A Personal View of a Chemist, *Small* **2005**, 1(3), 278-283.
2. Ghosh S.K., Pal T. Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications, *Chem. Rev.* **2007**, 107(11), 4797-4862.
3. Ozin G.A., Arsenault A.C., *NANOCHEMISTRY A Chemical Approach to Nanomaterials*, RSC, Cambridge, UK, 2005.
4. Liz-Marzán L.M. Nanometals: Formation and color, *Materials Today* **2004**, 7(2), 26-31.
5. Feynman R.P. The wonders that await a micro-microscope, *Saturday Rev.* **1960**, 43, 45.
6. Feynman R.P. There's Plenty of Room at the Bottom, *Eng. Sci.* **1960**, 23, 22.
7. Tao A.R., Habas S., Yang P.D. Shape Control of Colloidal Metal Nanocrystals, *Small* **2008**, 4(3), 310-325.
8. Nogueira H.I.S., Teixeira-Dias J.J.C., Trindade T. Nanostructured metals in surface enhanced raman spectroscopy, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* **2004**, 7, 699-715.
9. Vanden Bout D.A., *Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications*, Marcel Dekker, Inc, New York and Basel, 2002, **Vol. 124**, 7874-7875.
10. Schmid G. Large clusters and colloids. Metals in the embryonic state, *Chem. Rev.* **1992**, 92(8), 1709-1727.
11. Mulvaney P., Liz-Marzán L.M., Giersig M., Ung T. Silica encapsulation of quantum dots and metal clusters, *J. Mater. Chem.* **2000**, 10(6), 1259-1270.
12. Ung T., Liz-Marzán L.M., Mulvaney P. Gold nanoparticle thin films, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* **2002**, 202(2-3), 119-126.
13. Ung T., Liz-Marzán L.M., Mulvaney P. Optical Properties of Thin Films of Au@SiO₂ Particles, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105(17), 3441-3452.
14. Daniel M.C., Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology, *Chem. Rev.* **2004**, 104(1), 293-346.
15. Schmid G., Corain B. Nanoparticulated Gold: Syntheses, Structures, Electronics, and Reactivities, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2003(17), 3081-3098.
16. Pan Z., Morgan S.H., Ueda A., Mu R., Cui Y., Guo M., Burger A., Yeh Y. Surface-enhanced Raman probing of biomolecules using Ag-coated porous glass-ceramic substrates, *J. Raman Spectrosc.* **2005**, 36(11), 1082-1087.
17. Drachev V.P., Thoreson M.D., Nashine V., Khaliullin E.N., Ben-Amotz D., Davisson V.J., Shalaev V.M. Adaptive silver films for surface-enhanced Raman spectroscopy of biomolecules, *J. Raman Spectrosc.* **2005**, 36(6-7), 648-656.
18. Nogueira H.I.S., Cruz S.M.G., Soares-Santos P.C.R., Ribeiro-Claro P.J.A., Trindade T. Surface adsorption of 4,4'-dithiodipyridine and 2,2'-dithiodipyridine on silver nanoparticles, *J. Raman Spectrosc.* **2003**, 34(5), 350-356.
19. Castro J.L., López Ramírez M.R., López Tocón I., Otero J.C. Vibrational study of the metal-adsorbate interaction of phenylacetic acid and [alpha]-phenylglycine on silver surfaces, *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, 263(2), 357-363.
20. Nogueira H.I.S. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) of 3-aminosalicylic and 2-mercaptanonic acids in silver colloids, *Spectrosc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* **1998**, 54(10), 1461-1470.

21. Imai Y., Tamai Y., Kurokawa Y. Surface-enhanced Raman scattering of benzoic and thiosalicylic acids adsorbed on fine Ag particle-impregnated cellulose gel films, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1998**, 11(3), 273-278.
22. Maneerung T., Tokura S., Rujiravanit R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing, *Carbohydr. Polym.* **2008**, 72(1), 43-51.
23. Faraday M. Experimental relations of gold (and other metals) to light, *Phil. Trans. Roy. Soc.* **1857**, 147, 145-181.
24. Mafune F., Kohno J.y., Takeda Y., Kondow T., Sawabe H. Structure and Stability of Silver Nanoparticles in Aqueous Solution Produced by Laser Ablation, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104(35), 8333-8337.
25. Dahl J.A., Maddux B.L.S., Hutchison J.E. Toward Greener Nanosynthesis, *Chem. Rev.* **2007**, 107(6), 2228-2269.
26. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, 11, 55-75.
27. Pillai Z.S., Kamat P.V. What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method?, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108(3), 945-951.
28. Giersig M., Mulvaney P. Preparation of ordered colloid monolayers by electrophoretic deposition, *Langmuir* **1993**, 9(12), 3408-3413.
29. Brust M., Walker M., Bethell D., Schiffrin D.J., Whyman R. Synthesis of Thiol Derivatised Gold Nanoparticles in a Two-Phase Liquid/Liquid System, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 801-802.
30. Schmid G., Pfeil R., Boese R., Bandermann F., Meyer S., Calis G.H.M., Vandervelden W.A. Au₅₅[P(C₆H₅)₃]₁₂Cl₆ - a Gold Cluster of an Exceptional Size, *Chemische Berichte-Recueil* **1981**, 114(11), 3634-3642.
31. Pinto R.J.B., Marques P.A.A.P., Barros-Timmons A.M., Trindade T., Neto C.P. Novel SiO₂/cellulose nanocomposites obtained by in situ synthesis and via polyelectrolytes assembly, *Compos. Sci. Technol.* **2008**, 68(3-4), 1088-1093.
32. Kobayashi Y., Katakami H., Mine E., Nagao D., Konno M., Liz-Marzán L.M. Silica coating of silver nanoparticles using a modified Stober method, *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, 283(2), 392-396.
33. Ung T., Liz-Marzán L.M., Mulvaney P. Controlled Method for Silica Coating of Silver Colloids. Influence of Coating on the Rate of Chemical Reactions, *Langmuir* **1998**, 14(14), 3740-3748.
34. Liz-Marzán L.M., Giersig M., Mulvaney P. Synthesis of nanosized gold-silica core-shell particles, *Langmuir* **1996**, 12(18), 4329-4335.
35. Liz-Marzán L.M., Giersig M., Mulvaney P. Homogeneous silica coating of vitreophobic colloids, *Chem. Commun.* **1996**, 731-732.
36. Hardikara V.V., Matijevic E. Coating of Nanosize Silver Particles with Silica, *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, 221(1), 133-136.
37. Stöber W., Fink A., Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range, *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, 26, 62-69.
38. Cushing B.L., Kolesnichenko V.L., O'Connor C.J. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles, *Chem. Rev.* **2004**, 104(9), 3893-3946.

39. Lu Y., Yin Y., Li Z.Y., Xia Y. Synthesis and Self-Assembly of Au@SiO₂ Core-Shell Colloids, *Nano Lett.* **2002**, 2(7), 785-788.
40. Gangopadhyay R., De A. Conducting Polymer Nanocomposites: A Brief Overview, *Chem. Mater.* **2000**, 12(3), 608-622.
41. Sanchez C., Soler-Illia G.J.D.A.A., Ribot F., Grosso D. Design of functional nanostructured materials through the use of controlled hybrid organic-inorganic interfaces, *C. R. Chim.* **2003**, 6(8-10), 1131-1151.
42. Sanchez C., Soler-Illia G.J.A.A., Ribot F., Lalot T., Mayer C.R., Cabuil V. Designed Hybrid Organic-Inorganic Nanocomposites from Functional Nanobuilding Blocks, *Chem. Mater.* **2001**, 13(10), 3061-3083.
43. Kelly A., *Concise Encyclopedia of Composite Materials*, New York, 1994.
44. Sanchez C., Julián B., Belleville P., Popall M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites, *J. Mater. Chem.* **2005**, 15, 3559-3592.
45. Esteves A.C.C., Barros-Timmons A., Trindade T. Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos, *Quim. Nova* **2004**, 27(5), 798-806.
46. Shim B.S., Podsiadlo P., Lilly D.G., Agarwal A., Lee J., Tang Z., Ho S., Ingle P., Paterson D., Lu W., Kotov N.A. Nanostructured Thin Films Made by Dewetting Method of Layer-By-Layer Assembly, *Nano Lett.* **2007**, 7(11), 3266-3273.
47. Hubsch E., Ball V., Senger B., Decher G., Voegel J.C., Schaaf P. Controlling the Growth Regime of Polyelectrolyte Multilayer Films: Changing from Exponential to Linear Growth by Adjusting the Composition of Polyelectrolyte Mixtures, *Langmuir* **2004**, 20(5), 1980-1985.
48. Evans B.R., O'Neill H.M., Malyvanh V.P., Lee I., Woodward J. Palladium-bacterial cellulose membranes for fuel cells, *Biosens. Bioelectron.* **2003**, 18(7), 917-923.
49. Decher G., Schlenoff J.B., *Multilayer thin films: sequential assembly of nanocomposite materials*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
50. Eckle M., Decher G. Tuning the Performance of Layer-by-Layer Assembled Organic Light Emitting Diodes by Controlling the Position of Isolating Clay Barrier Sheets, *Nano Lett.* **2001**, 1(1), 45-49.
51. Decher G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites, *Science* **1997**, 277, 1232-1237.
52. Langmuir I., Schaefer V.J. Monolayers and Multilayers of Chlorophyll, *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59(10), 2075-2076.
53. Blodgett K.B. Monomolecular films of fatty acids on glass, *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, 56(2), 495-495.
54. Yu L., Dean K., Li L. Polymer blends and composites from renewable resources, *Prog. Polym. Sci.* **2006**, 31(6), 576-602.
55. Klemm D., Heublein B., Fink H.P., Bohn A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material, *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2005**, 44(22), 3358-3393.
56. Sjöström E., *WOOD CHEMISTRY Fundamentals and Applications*, Second ed. Academic Press, London, 1993, 54-62.
57. Zugenmaier P. Conformation and packing of various crystalline cellulose fibers, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26(9), 1341-1417.

-
58. Kobayashi S., Sakamoto J., Kimura S. In vitro synthesis of cellulose and related polysaccharides, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26(9), 1525-1560.
 59. Kim J., Yun S., Ounaies Z. Discovery of Cellulose as a Smart Material, *Macromolecules* **2006**, 39(12), 4202-4206.
 60. Klemm D., Einfeldt L. Structure design of polysaccharides: Novel concepts, selective syntheses, high value applications, *Macromol. Symp.* **2001**, 163, 35-47.
 61. Krässig H.A., *Cellulose. Structure, Accessibility and Reactivity*, Gordon and Breach Science Publishers, Yverdon, Switzerland, 1993, **Vol. 11**, 6-41.
 62. Roberts J.E., *Paper Chemistry*, Second ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996.
 63. Klemm D., Schumann D., Udhardt U., Marsch S. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26(9), 1561-1603.
 64. Czaja W., Krystynowicz A., Bielecki S., Brown J.R.M. Microbial cellulose - the natural power to heal wounds, *Biomaterials* **2006**, 27(2), 145-151.
 65. Iguchi M., Yamanaka S., Budhiono A. Bacterial cellulose - a masterpiece of nature's arts, *J. Mater. Sci.* **2000**, 35, 261-270.
 66. Tao A.R., Yang S.H.P. Shape Control of Colloidal Metal Nanocrystals, *Small* **2008**, 4(3), 310-325.
 67. Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramirez J.T., Yacaman M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology* **2005**, 16(10), 2346-2353.
 68. Shenhar R., Norsten T.B., Rotello V.M. Polymer-Mediated Nanoparticle Assembly: Structural Control and Applications, *Adv. Mater.* **2005**, 17(6), 657-669.
 69. Ram S., Tripathy P., Fecht H.J. Gold nanoparticles reinforced poly(vinyl alcohol) of self-standing optical films, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2007**, 7, 3200-3206.
 70. Huang C.C., Huang Y.F., Chang H.T. Plasmon absorption of gold nanoparticles in linear polymer solutions, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2004**, 4(6), 622-627.
 71. Nair L.S., Laurencin C.T. Biodegradable polymers as biomaterials, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32(8-9), 762-798.
 72. Yu F., Liu Y., Zhuo R. A Novel Method for the Preparation of Core-shell Nanoparticles and Hollow Polymer Nanospheres, *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, 91(4), 2594-2600.
 73. He J., Kunitake T., Nakao A. Facile In Situ Synthesis of Noble Metal Nanoparticles in Porous Cellulose Fibers, *Chem. Mater.* **2003**, 15(23), 4401-4406.
 74. Zeng F., Hou C., Wu S.Z., Liu X.X., Tong Z., Yu S.N. Silver nanoparticles directly formed on natural macroporous matrix and their anti-microbial activities, *Nanotechnology* **2007**, 18(5).
 75. Shim I.W., Noh W.T., Kwon J., Cho J.Y., Kim K.S., Kang D.H. Preparation of copper nanoparticles in cellulose acetate polymer and the reaction chemistry of copper complexes in the polymer, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, 23(4), 563-566.
 76. Kapoor S., Gopinathan C. Reduction and aggregation of silver, copper and cadmium ions in aqueous solutions of gelatin and carboxymethyl cellulose, *Radiat. Phys. Chem.* **1998**, 53(2), 165-170.
 77. Marques P., Trindade T., Neto C.P. Titanium dioxide/cellulose nanocomposites prepared by a controlled hydrolysis method, *Compos. Sci. Technol.* **2006**, 66(7-8), 1038-1044.
-

78. Enustun B.V., Turkevich J. Coagulation of Colloidal Gold, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85(21), 3317-3328.
79. Lu Y., Yin Y., Li Z.Y., Xia Y. Synthesis and Self-Assembly of Au@SiO₂ Core-Shell Colloids, *Nano Lett.* **2002**, 2(7), 785-788.
80. Liz-Marzán L.M., Giersig M., Mulvaney P. Synthesis of nanosized gold-silica core-shell particles, *Langmuir* **1996**, 12(18), 4329-4335.
81. Gu J., Fan W., Shimojima A., Okubo T. Microwave-induced synthesis of highly dispersed gold nanoparticles within the pore channels of mesoporous silica, *J. Solid State Chem.* **2008**, 181(4), 957-963.
82. Cunha A.G., Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Neto C.P., Gandini A., Orblin E., Fardim P. Highly Hydrophobic Biopolymers Prepared by the Surface Pentafluorobenzoylation of Cellulose Substrates, *Biomacromolecules* **2007**, 8(4), 1347-1352.
83. Barud H.S., Ribeiro C.A., Crespi M.S., Martines M.A.U., Dexpert-Ghys J., Marques R.F.C., Messaddeq Y., Ribeiro S.J.L. Thermal characterization of bacterial cellulose-phosphate composite membranes, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007**, 87(3), 815-818.
84. Jeanmaire D.L., Van Duyne R.P. Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode, *J. Electroanal. Chem.* **1977**, 84(1), 1-20.
85. Albrecht M.G., Creighton J.A. Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99(15), 5215-5217.
86. Ota F., Higuchi S., Gohshi Y., Furuya K., Ban M., Kyoto M. Some considerations of the SERS effect of L-phenylalanine in the near-infrared region using silver colloid solution, *J. Raman Spectrosc.* **1997**, 28(11), 849-854.
87. Thiel J., Pakstis L., Buzby S., Raffi M., Ni C., Pochan D.J., Shah S.I. Antibacterial properties of silver-doped titania, *Small* **2007**, 3(5), 799-803.
88. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E-coli as a model for Gram-negative bacteria, *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, 275(1), 177-182.
89. Creighton J.A., Blatchford C.G., Albrecht M.G. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1979**, 2, 790-798.
90. Lee P.C., Meisel D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols, *J. Phys. Chem.* **1982**, 86(17), 3391-3395.